

Amst., 1929

ONDERZOEKINGEN OVER DE
KALIUM- EN NATRIUMSTOFWISSELING
VAN ERYTHROCYTEN

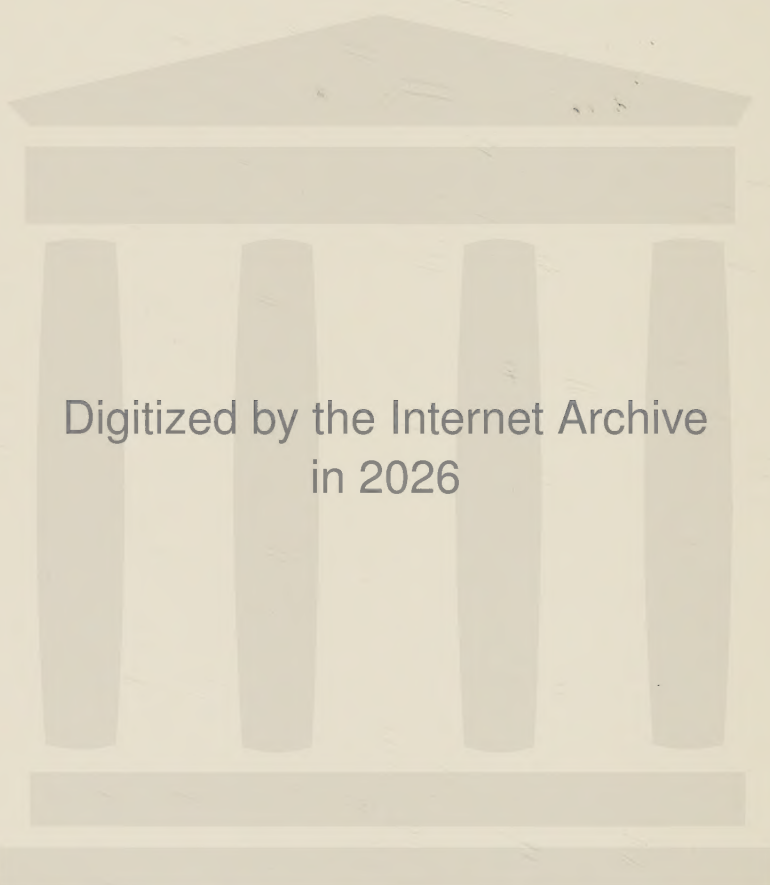
INVESTIGATIONS ON POTASSIUM AND SODIUM
METABOLISM IN ERYTHROCYTES

With a summary in English

LANE LIBRARY. STANFORD UNIVERSITY

A. J. HOUTSMULLER

ONDERZOEKINGEN OVER DE KALIUM- EN NATRIUM-
STOFWISSELING VAN ERYTHROCYTEN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ONDERZOEKINGEN OVER DE
KALIUM- EN NATRIUMSTOFWISSELING
VAN ERYTHROCYTEN

INVESTIGATIONS ON POTASSIUM AND SODIUM
METABOLISM IN ERYTHROCYTES

With a summary in English

Proefschrift

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN
DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE
UTRECHT, OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
DR J. JONGBLOED, HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE, VOLGENS BESLUIT VAN DE
SENAAT DER UNIVERSITEIT IN HET OPENBAAR TE
VERDEDIGEN OP DINSDAG 12 MEI 1959,
DES NAMIDDAGS TE 4.15 UUR PRECIES

DOOR

ADELBERT JOHANNES HOUTSMULLER

GEBOREN TE MALANG



1959

SCHELTEMA & HOLKEMA N.V.
AMSTERDAM

Promotor:

PROF. DR F. L. J. JORDAN

AAN JOLYT

*Gaarne betuig ik mijn dank aan het Bestuur der Stichting tot Bevordering
van Medisch-Wetenschappelijk Onderzoek voor de financiële steun, welke ik
voor de bewerking van dit proefschrift mocht ontvangen*

Hooggeachte Professor JORDAN, het feit dat dit proefschrift nu gaat verschijnen heb ik aan u te danken. Toen ik u zeven maanden geleden verzocht mijn Promotor te willen worden, heeft u zonder aarzeling hierin toegestemd, hoewel mijn experimentele werk reeds grotendeels voltooid was. Uw diepgaande interesse heeft mij bijzonder gestimuleerd. Ze bracht mij in aanraking met vele vraagstukken der haematologie, in het bijzonder met die der haemolyse en maakte mij enthousiast voor nieuw onderzoek. U gaf mij zeer veel van uw tijd en aandacht. Ik breng u hiervoor mijn hoogste dank. Groot respect heb ik voor uw nauwgezetheid en systematisch onderzoek en voor de eenvoud en rust, waarmee u situaties benadert.

Hooggeachte Professor HULST, u heeft met Professor JORDAN uw kliniek voor mij open gesteld, hoewel ik een onbekende voor u was. Het is een voorrecht te werken in een atmosfeer zo gedragen door persoonlijke belangstelling. Inspirerend is de wijze waarop u de gastro-enterologie aan ons overdraagt. Ik dank u voor dit alles.

Hooggeachte Professor WESTENBRINK, ik dank u voor het vertrouwen in mij gesteld. U heeft zonder mijn werk te kennen mijn Promotor willen zijn. Toen uw drukke werkzaamheden een snelle afwikkeling van de dissertatie onmogelijk maakten, heeft u zelf voorgesteld, van Promotor te veranderen. Ik heb begrepen, dat u dit niet gemakkelijk is gevallen. Ik hoop, dat dit proefschrift zo is geworden als u zich dat had voorgesteld.

Toen ik bij u kwam met een dissertatieonderwerp over de nieren, Dr KOSTER, antwoordde u: „Ik heb wat beters”. U vertrouwde mij uw eigen onderzoek toe, dat mij onmiddellijk fascineerde. Noch u noch ik vermoedde toen in welke richting dit zich zou gaan ontwikkelen en hoe het ook mij in bezit zou nemen. Een vreugde waren de vele vruchtbare gesprekken. Ik dank u voor uw vriendschap.

Hooggeachte Professor VAN RUYVEN, het gemak waarmee u

ingewikkelde problemen tot eenvoudige begrippen herleidt, maakt de studie van hartziekten uitermate boeiend. Het verheugt me, de beginselen der cardiologie van u te leren.

Hooggeachte Professor TAUSK, met bijzonder genoegen luisterde ik naar uw critische endocrinologische besprekingen. Ook dank ik u voor het contact dat u voor mij legde met Professor LOEWL.

Hooggeachte Professor DEENSTRA, efficientie en kennis van details gaan bij u samen met een visie voor de grote lijnen. Werken onder uw leiding is een voorrecht.

Zeer geachte Dr BUSSEMAKER, het verheugt me van u de röntgenologie te leren. De laatste weken gaf u me veel tijd voor de dissertatie. Ik dank u hiervoor.

De Generaal WILKENS betuig ik mijn erkentelijkheid voor de vele faciliteiten en hulp voor het verkrijgen van een ruime literatuur documentatie.

Zeer waardeer ik het, Kolonel WARFFEMIUS, dat u mij in het Centraal Militair Hospitaal plaatste. Het heeft voor mij de mogelijkheden tot dit onderzoek geopend.

Velen hebben hun aandeel gehad in het tot stand komen van deze dissertatie: Mejuffrouw Dr VAN EEDEN gebruikte haar grote kennis om dit onderzoek statistisch verantwoord te doen zijn. Zij werd hierin ter zijde gestaan door Dr VAN HERK. Dr DE WAEL hielp met de statistische beschouwing der procentuele berekeningen en nam met zijn biologische kennis de tekst kritisch door. Ook aan hem heb ik veel te danken. Op kundige wijze bekortte Dr NIEMEIJER enkele hoofdstukken. Mejuffrouw Woudstra voerde mij in de geheimen der vlamfotometrie in. Zij en haar staf openden gastvrij hun laboratorium voor mij. Mejuffrouw VERZIJL stond dag en nacht klaar om met haar exacte weegkunst nieuwe oplossingen te bereiden. Dezelfde open gastvrijheid werd mij deel in het laboratorium van mejuffrouw BOLLE en later mejuffrouw HOOGSTEDE; geen verzoek was te veel.

Zuster VALK, mevrouw MIGNON-SORGE, de zusters KOOIMAN, PRAAMSMA, TER HOEVEN en LIGTHART hielpen met vele experimenten en verlichtten het medische werk. De heer BEYERSBERGEN verrichtte talloze glucosebepalingen.

Bijzonder wil ik JOKE VAN DEN BERGH danken, die, ook toen ik reeds lang vertrokken was uit het CMHU, onvermoeid kostbare uren besteedde aan het vele malen overtypen van de steeds veranderende tekst. De laatste maanden werd dit werk overgenomen door mijn zusje en schoonzusje. JETTY VAN DER KRAAN-BECKER en

later zuster SALOMONS zetten literatuuraanvragen efficient in tijdschriften en boeken om. De heer BOEKHOUT gelukte het in een minimum aan tijd een maximum aan tekeningen te vervaardigen, terwijl de heer VAN DE BULT zijn technische gaven gebruikte voor het vervaardigen van een bloed-rotator.

Lange tijd werkte ik naast Dr VALKENBURG aan de onderwerpen die ons vervulden. Aan elkaar toetsten wij meningen en uitkomsten. De concretisering der formules ter bepaling van intercellulair plasma is hieruit ontstaan. Mijn dank voor deze tijd.

Dr Roos verkortte en verbeterde mijn tekst en maakte deze leesbaar. De gesprekken met hem en met Dr BOEKELMAN over onze erythrocyt bepaalden mede de kleur van dit proefschrift. Ik verheug me, dat zij beiden mijn paranymphen willen zijn.

It is with gratitude that I recall the assistance of Mr SIMMONS for his translation of the summary.

Mijn mede assistenten dank ik voor hun hulp en vriendschap.

Ten slotte wil ik ook de N.V. SCHELTEMA EN HOLKEMA van harte danken voor de medewerking om dit proefschrift op tijd te laten verschijnen.

INHOUD

	blz.
Hoofdstuk I. <i>Inleiding en probleemstelling</i>	1
Hoofdstuk II. <i>Literatuuroverzicht</i>	
A. De chemische samenstelling van normale erythrocyten en plasma	3
B. De koolhydraatstofwisseling der erythrocyten	8
C. De kalium- en natrium stofwisseling der erythrocyten	13
Experimentele gegevens.	13
Pathologische omstandigheden	16
D. De fosfaatstofwisseling der erythrocyten	19
Hoofdstuk III. <i>Methodiek</i>	22
A. De afname van het bloed	22
B. De bepaling der uitgangswaarden	24
C. De behandeling van het bloed en de bepalingen op verdere tijdstippen	26
D. De bepalingen der intracellulaire waarden	26
I. De rechtstreekse bepaling	27
II. De indirecte methode	28
E. De haematocrietbepaling	30
F. De vlamfotometrische bepaling van kalium en natrium	31
a) de standaardoplossingen	32
b) de verdunningen	34
c) de verstuiwer	35
d) de filters	36
e) de ijkcurven	38
G. De nauwkeurigheid der vlamfotometrische analyses	39
H. De correctie der intracellulaire waterschuivingen	40
J. De bepaling van het plasma- en celwater	42
K. De bepaling van het intercellulaire plasma	42

L. De glucose bepalingen	45
M. De statistische bewerkingen	45
Hoofdstuk IV. <i>Resultaten</i>	
I. <i>Waarnemingen bij normalen</i>	46
II. <i>Onderzoek bij patiënten met verschillende ziektoestanden.</i>	56
1. Diabetes mellitus	56
2. Levercirrhose	67
3. Anaemieën	74
a. Hypochrome anaemie	74
b. Acut bloedverlies	74
c. Aplastische anaemie	75
d. Haemolytische anaemieën	75
e. Anaemieën bij de macroglobulinaemie van Waldenström	81
f. Marchiafava-Micheli anaemie	83
g. Anaemie bij acute myeloïde leucaemie	84
4. Het effect van corticosteroïden op de kalium-, natrium- en koolhydraatstofwisseling van erythrocyten	88
5. De electrolytenverschuivingen bij M. Addison	94
6. Hypokaliaemie	98
7. Hepatitis infectiosa	104
8. Hyperthyreose	105
9. Patiënten met verhoogde gevoeligheid voor insuline	106
10. Asthma bronchiale	109
11. Nierziekten	110
12. Maligne tumoren	111
13. Verschillende endocrine afwijkingen	112
<i>Appendix</i>	120
<i>Samenvatting</i>	128
<i>Summary</i>	134
<i>Literatuur</i>	142

INLEIDING EN PROBLEEMSTELLING

Hoewel uit de biochemie en de haematologie reeds veel over de stofwisseling van erythrocyten bekend is, zijn er nog onvoldoende gegevens verkregen over afwijkingen hiervan in pathologische omstandigheden.

In de tweede wereldoorlog is door de bloedtransfusiediensten intensief gewerkt om de voorwaarden voor de conservering van bloed te verbeteren. Dit ging zowel over de morphologische houdbaarheid van de erythrocyt als over de uitwisseling van electrolyten tussen de erythrocyten en de omgevende vloeistof. Vooral de uit-treding van kalium uit de erythrocyten is hierbij van belang, daar een te hoog gehalte aan kalium in de vloeistof een potentieel gevaar inhoudt van acute hartstilstand tijdens een transfusie.

Uit de literatuur was reeds lange tijd bekend, dat de erythrocyten glucose verbruiken voor hun stofwisseling en sinds kort, dat zij hierbij kalium opnemen. Merkwaardig is daarbij, dat de erythrocyten dit bij het glucoseverbruik noodzakelijke kalium niet onttrekken aan de intracellulaire voorraad van dit electrolyt, maar het, tegen een niet onaanzienlijk concentratieverschil in, opnemen uit hun omgeving. Ditzelfde geldt *mutatis mutandis* voor het uittreden van natrium uit de erythrocyten in het omringende milieu.

Het merkwaardige feit, dat na bloedafname de erythrocyten *in vitro* onmiddellijk beginnen met het opnemen van kalium tegen een hoge concentratie in, kreeg in de literatuur slechts weinig aandacht. Het is onwaarschijnlijk, dat een zo eenzijdig verschoven proces als deze *in vitro* steeds aantoonbare opname van kalium ook *in vivo* zou plaats vinden, daar dit spoedig tot osmotische erythrolyse zou moeten leiden. Het lijkt, of door het simpele feit van het bloedafnemen een labiel evenwicht wordt verbroken.

De ervaring van acute hartstilstand door het geven van bewaard

bloed tijdens een operatie werd aanleiding tot onderzoek van bovengenoemde vraagstukken.

Bij de bestudering van verschillende aspecten van de glycolyse en van de uitwisseling van electrolyten bleek, dat er slechts weinig gegevens bekend waren over deze processen bij verschillende ziekten, zodat wij in verband met het voorgaande tot de volgende probleemstelling kwamen:

- a)* onderzoek van de kalium- en natriumuitwisseling in vitro tussen plasma en erythrocyten bij normale mensen gedurende meestal 26 uur, waarbij tegelijkertijd het glucosegehalte van het plasma werd bepaald.
- b)* onderzoek naar dezelfde processen in vitro bij patiënten lijdende aan verschillende ziekten.
- c)* onderzoek naar de invloed van verschillende pharmaca en hormonen op de onder a en b vermelde processen.
- d)* onderzoek naar de verandering van deze electrolytenuitwisselingen en glycolyse, ontstaan door incubatie van erythrocyten van bepaalde patiënten met normaal plasma en het omgekeerde hiervan.

LITERATUUROVERZICHT

A. DE CHEMISCHE SAMENSTELLING VAN NORMALE ERYTHROCYTEN EN PLASMA

De normale erythrocyten van de mens zijn opgebouwd uit een celmembraan, waarbinnen zich een aantal stoffen, voor het merendeel in opgeloste toestand, bevindt.

De belangrijkste hiervan zijn:

- (1) ongeveer 70% celwater,
- (2) kalium, natrium en magnesium,
- (3) chloride, bicarbonaat en anorganisch fosfaat,
- (4) haemoglobine,
- (5) organische fosfaten,
- (6) organische stoffen met een laag moleculair gewicht zoals glucose, ureum, aminozuren, etc.
- (7) enzymen.

De celmembraan heeft een zeer complexe structuur [1]. Het ligt echter buiten de opzet van dit onderzoek hier dieper op in te gaan.

De samenstelling van plasma is algemeen bekend, zodat wij naar de betreffende literatuur verwijzen [16].

Aan een nadere beschouwing zullen die bestanddelen van erythrocyten en plasma worden onderworpen, die voor ons van belang blijken te zijn.

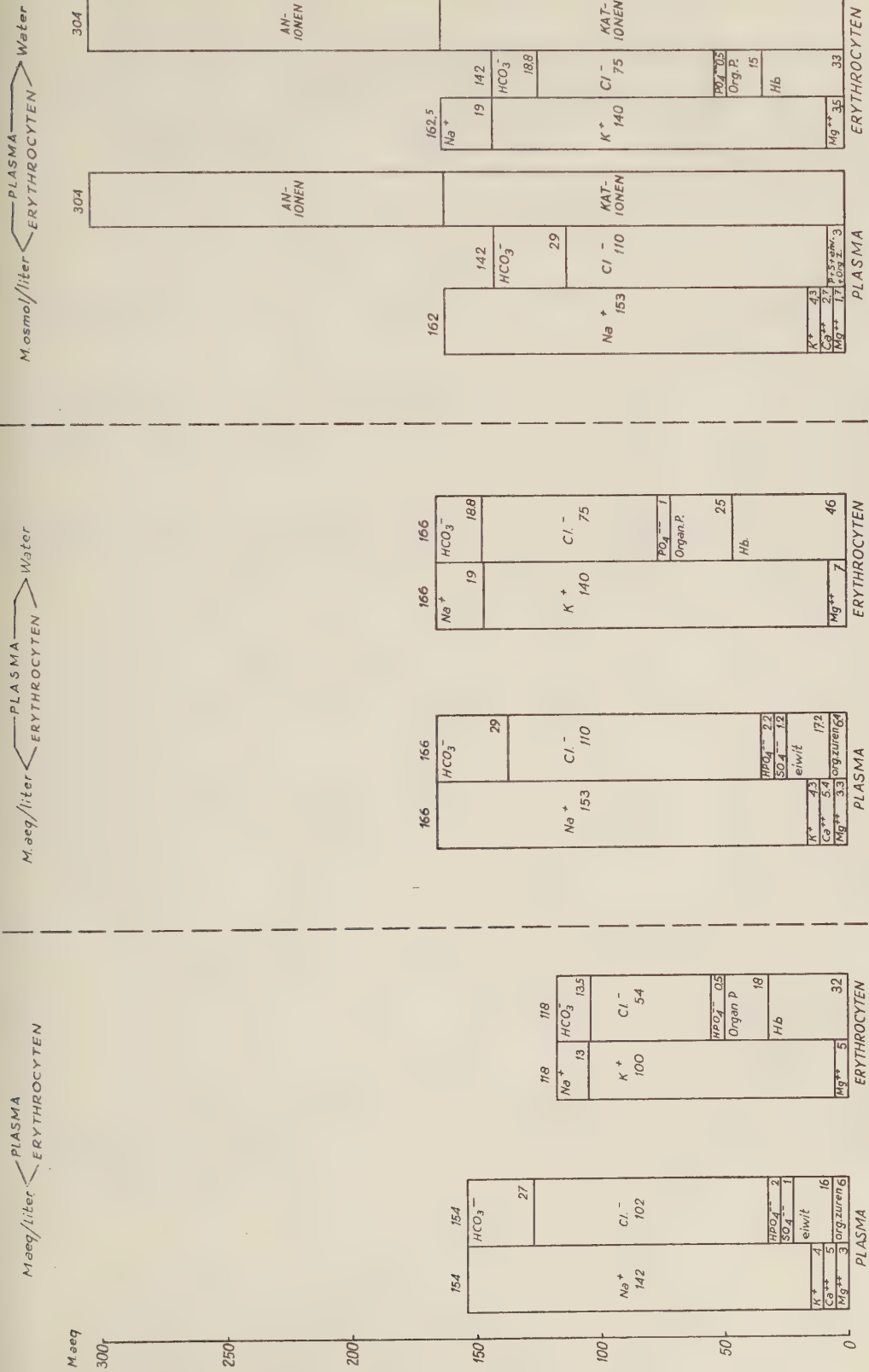
De waarden, die door verschillende onderzoekers voor de bestanddelen van plasma en erythrocyten werden gevonden, worden in Tabel 1 samengevat, met uitzondering van de kalium- en natriumwaarden, die apart worden vermeld in Tabel 2. (Zie pag. 6, 7, 8 en 9.

TABEL 1

auteur	jaar	per liter Plasma				per liter Erythrocytenbry				
		gram	m aeq			gram	m aeq			gram
			H ₂ O	Cl	HCO ₃		PO ₄	H ₂ O	Cl	
HASTINGS [2]	1928	934	100	29,2		681	56	18,4		
DILL [3]	1930	—	106	24,6	2,2	720	53			335
BUTLER [4]	1934		103				54			
PETERS [5]	1935	935	104	26	2	707	52	19	2	
EISENMANN [6]	1936					715				327
MAIZELS [7]	1936					710	51			295
ERICKSON [8]	1937	947				720				
DILL [9]	1937	938	104,6	25,1		720	56	17		
PONDER [10]	1942									336
RAPOPORT [11]	1946		106	25,2	2,4		52	12,6		27,2
PONDER [12]	1948	935								m aeq/l
GUEST [13]	1949					715	53			
DRABKIN [14]	1950	938	104	27		715	56	13,4		340(31,8
NICHOLS [15]	1953	927				721				m aeq/l)
GAMBLE [16]	1954	935	103		2		55			
ROEGHOLT [17]	1955	935	103			712			0,5	335

Daar bij ons onderzoek vooral die factoren werden onderzocht, die de kalium- en natriumuitwisseling tussen plasma en erythrocyten mede bepalen, leek het ons nuttig de chemische diagrammen van GAMBLE, DRABKIN, NICHOLS, ROEGHOLT, etc. over te nemen (figuur 1) om het overzicht in deze materie te vergemakkelijken. Als watergehalte van plasma werd 935 ml en van erythrocyten 720 ml per liter cellen aangenomen.

Uit de gegevens in tabel 2 bleek dat de kaliumconcentratie in het plasma in de meeste gevallen lager lag dan in het serum, onafhankelijk van de gebruikte bepalingstechniek. Hiernaast hing de hoogte van de natriumconcentratie in de erythrocyten af van de directe of indirecte methode, waarbij de directe methode bijna steeds lagere waarden aangaf. Wij zullen op beide verschijnselen in hoofdstuk 3 terugkomen.



Figuur 1. Samenstelling van plasma en erythrocyten

Auteurs	jaar	aan- tal	serum, plasma						totaal		
			kalium			natrium			kalium		
			gemid- delde		σ	gemid- delde		σ	gemid- delde		σ
KRAMER [18]	1921	10	5,0	S.	4,9-5,1	} ± 2					
		16	5,1	S.	4,6-5,5						
KRAMER [19]	1921	8		S.		146,0	S.	144,3-150,0	$\pm 2,5$		
						145,6	S.	140,4-149,6			
MEYERS [20]	1921	4 ♂	4,4	S.	3,6-4,6					48,8	36,5-69,0
KRAMER [21]	1922	13K 7Na	5,0	S.		145,7	S.			46,6	39,2-51,9
ATCHLEY [22]	1923	6	4,5	S.	3,1-5,2	132,8	S.	111,2-146,5	$\pm 4,7$		
ROURKE [23]	1928	14				147,4		144,7-150,9			
DILL [24]	1930	9	3,3	Pl.	2,9-4,3	139,6	Pl.	134,5-141,5		43,6	39,7-48,6
HOFFMAN [25]	1934	30	4,9	S.	4,0-5,4	$\pm 0,73$					43,4-55,9
MAIZELS [26]	1935	53									
OBERST [27]	1935	20									
MAIZELS [7]	1936	?	4,1	Pl.	3,8-4,7	139		136 -142	$\pm 1,7$		
HALD [28]	1937	16	4,6	S.	3,4-6,5	$\pm 0,7$	135,1	129,1-139,2		38,7	33,9-49,6 $\pm 4,9$
CRAFTREE [29]	1937	7									
STREEF [30]	1939	25									
CONSOLAZIO [31]	1940	37			3,88-5,59			135,0-143,0			
		11			3,95-7,11						
ALBANESE [32]	1945	6		S.	3,7-5,6						
HALD [33]	1946	8	4,4	S.	3,1-5,3	137,1		134,2-141,0		44,8	40,3-48,8
MARINIS [34]	1947	107	4,5	S.	3,6-6,2	$\pm 0,45$	144	S.	135,5-153,2	$\pm 3,6$	
HALD [35]	1947	12	4,5	S.	4,2-4,9		137,0	130,2-145,5		43,5	41,5-45,5
		5			3,8-4,8						
HALD [36]	1947	16 ♂ 12 ♀				135,7		143,3-132,4 ♂	$\pm 2,28$		
						133,4		136,7-129,0	$\pm 3,11$		
OVERMAN [37]	1947	30		S.	3,6-4,6	153		140,4-159,1		57,0	37,2-65,8
ALBANESE [38]	1948	3						133 -141			
MOSHER [39]	1949	?				144,7		135 -155			
RANDALL [40]	1949	35	4,26	Pl.	3,8-4,6	$\pm 0,43$					
		32				141,0			$\pm 2,63$		
SMITH [41]	1950	103	4,06	Pl.	3,61-4,85	$\pm 0,26$	142	Pl.	136 -158	$\pm 1,8$	
			4,11		3,40-4,92	$\pm 0,27$	145		130 -159	$\pm 5,5$	
DRABKIN [42]	1950										
DAVIDSEN [43]	1950	13			5,09-5,12	± 3					
CORSA [44]	1950	12									
FARBER [45]	1951	70	4,41		3,7-5,3		144,7		$\pm 3,8$		
ELLIOTT [46]	1951	400	4,18	S.	3,1-5,5	$\pm 0,79$	144,7	S.	135,0-155,0	$\pm 0,86$	
WALLACE [47]	1951	50	5,04		4,40-5,72	$\pm 1,31$	134,7		129,8-142,0	$\pm 0,54$	
LANS [48]	1952	177	4,84	S.	3,9 -5,8					45,5	40,0-53,0
BERNSTEIN [49]	1952	?	4,64	Pl.	3,8 -5,5	$\pm 0,28$	145,0			$\pm 3,5$	45,5-55,0

bloed			erythrocyten						Methode
natrium			kalium			natrium			
mid- elde		σ	gemid- elde		σ	gemid- elde		σ	
32,4	80,9-95,7		109,7	105,1-113,9		-3,5	-7,4 $\rightarrow$ +2,6		indirect
33,6	79,5-88,6		93,7	88,7- 99,1		14,9	13,1-17,2		indirect
			108,4	100,8-118,6	$\pm 3,3$	18			indirect
			107	87 -119	± 3				direct
						7,2	6,1- 8,9		direct
			106	101 -110		12	10 -15		direct
31,3	76,2-90,6	$\pm 3,5$	82,5	71,8-101,7	$\pm 4,9$	16,8	10,1-27,1	$\pm 3,5$	indirect
			100,4	94,0-105,0	± 2		10,0-19,0	± 3	direct
			96,9	83,6-107,1		18,7	11,2-26,1		direct
			112,8						direct
35,4	79,3-91,0		95,1	91,8-100,0		21,2	15,7-25,3		indirect
77,7	74,0-81,0								
44,3	82,6-111,7		112,0	108,9-114,0	± 2	6,1	Spoor -13,4	± 3	direct
	79,3- 91,0								
			90			18			
			99	98,6-100,2					indirect
			102						
			99,2	93,6-115,8					indirect
	80,0-92,0		96,8		$\pm 3,7$	13,7		$\pm 5,3$	direct

			serum, plasma						totaal		
			kalium			natrium			kalium		
Auteurs	jaar	aantal	gemiddelde		σ	gemiddelde		σ	gemiddelde		σ
WEBSTER [50]	1952	20	5,22	S. 3,9 -6,3	$\pm 0,64$						
HUTT [51]	1952	14	4,4	3,7 -4,9	$\pm 0,4$	138	135-142	$\pm 2,6$			
ELMAN [52]	1952	?	4,4	3,8 -5,0							
TOSTESON [53]	1952	?	3,7		$\pm 0,2$	136		± 2			
HARRISON [54]	1952	8	4,4			140,0					
		17									
SOLOMON [55]	1952	21	4,65	Pl. 3,88-5,40	$\pm 0,44$	143,6	Pl. 137,6-152,2	± 3			
		14									
BERNSTEIN [56]	1953	24	4,7		$\pm 0,36$						
		45	4,64		$\pm 0,30$						
LOVE [57]	1953	62 ♂ 34 ♀	3,62	Pl. 2,45-4,30	$\pm 1,5$	140,6	Pl. 131,0-150,5	$\pm 1,1$			
NICHOLS [58]	1953	21	4,0			139,8		$\pm 2,5$			
KEITEL [59]	1955	22	4,04 ♂ 4,00 ♀	3,71-4,41 3,63-4,38	$\pm 0,2$ $\pm 0,23$	142 139,9	141,0-144,0 137,3-141,2	$\pm 1,04$ $\pm 1,2$			
GOLD [60]	1955	20				139,3	134,9-141,4	$\pm 2,2$			
ROEGHOLT [17]	1955	23 ♂	4,2	3,6 -4,9	$\pm 0,4$	143,5	138 -146	$\pm 1,9$			
FAWCETT [62]	1956	25	4,11	3,57-4,65	$\pm 0,27$	141,7	139,7-143,7	$\pm 1,0$			
D'AMIGO [63]	1958	25	4,29		$\pm 0,39$	145,13		$\pm 4,06$			
BOEKELMAN [64]	1958	42									

Daar de factoren, die de plasma- en erythrocytensamenstelling beïnvloeden, kortgeleden uitvoerig door ROEGHOLT [17] werden besproken, zal hierop niet verder worden ingegaan.

Van overwegend belang hierbij blijven de wetten, reeds in 1923 door VAN SLIJKE c.s. geformuleerd, [65] nl.:

(1) in cellen en plasma zijn de concentraties van positieve en negatieve ionen, uitgedrukt in milliequivalenten per liter, aan elkaar gelijk.

(2) de verhoudingen $\frac{\text{Cl}^- \text{ cellen}}{\text{Cl}^- \text{ plasma}}$ en $\frac{\text{HCO}_3^- \text{ cellen}}{\text{HCO}_3^- \text{ plasma}}$ zijn con-

stant, en volgen de Donnan-wetten:

$$\frac{\text{H}^+ \text{ plasma}}{\text{H}^+ \text{ cellen}} = \frac{\text{Cl}^- \text{ cellen}}{\text{Cl}^- \text{ plasma}} = \frac{\text{HCO}_3^- \text{ cellen}}{\text{HCO}_3^- \text{ plasma}} = r$$

(3) de som der osmolaire concentraties van kationen en anionen zijn in plasma en cellen aan elkaar gelijk.

bloed			erythrocyten						Methode
natrium			kalium			natrium			
gemid- delde		σ	gemid- delde		σ	gemid- delde		σ	
			94,5		$\pm 3,6$				indirect
			97		?	11,0		?	direct
			100,8		$\pm 9,1$	14,5		$\pm 3,3$	indirect
						6,1		$\pm 7,0$	
			94,1	89,2–100,9	$\pm 3,3$	9,16	0 –20,1	$\pm 4,98$	indirect
						8,66	7,75–11,29	$\pm 1,40$	direct
			95,4		$\pm 4,8$	13,7		$\pm 5,3$	direct
			83,4	67,6– 98,5	$\pm 1,6$	7,7	4,0 –14,5	± 5	direct
			104,5		$\pm 6,4$	16,3		$\pm 3,6$	indirect
						12,1	10,8–17,9	$\pm 1,1$	direct
			97,8	90 –102	$\pm 2,8$	12,0	10,0–15,0	$\pm 1,5$	direct
			95,96		$\pm 3,99$	18,37		$\pm 6,49$	indirect
			95	90 – 98	± 2	10,9	8,6–14,9	$\pm 1,1$	direct

B. DE KOOLHYDRAATSTOFWISSELING DER ERYTHROCYTEN

De energie, nodig voor het in stand houden van de erythrocyten, wordt practisch uitsluitend door de afbraak van glucose geleverd. De erythrocyten kunnen te allen tijde gebruik maken van deze voedingsstof, die als één van de in water oplosbare stoffen gemakkelijk in de cellen diffundeert.

De glucosestofwisseling der erythrocyten, voor het eerst door CL. BERNARD [66] waargenomen, is van physiologische zijde uitvoerig onderzocht. Uit het feit, dat bloedsuikerbepalingen in totaal bloed worden verricht, blijkt, dat men aanneemt dat glucose gelijkmatig over plasma en erythrocyten moet zijn verdeeld. Sinds SOMOGY [67] weet men echter dat er een verhouding van 0,77 tussen intracellulair- en plasma-glucose bestaat; passief opgenomen anionen vertonen een dergelijke verhouding. Voor kationen blijkt deze verhouding niet op te gaan.

Het glucose diffundeert bij normale concentraties snel in de erythrocyten; bij hogere waarden (boven 400 mg.%) blijkt er een vertraging der passage door de erythrocytenmembraan te ontstaan (Saturation Kinetics van LEFÈVRE) [68]. Deze vertraging bij hogere concentraties geldt ook voor D-galactose, D-xylose en l-arabinose, m.a.w. juist voor die suikers, waarvan het transport door de celmembraan bij verschillende weefsels door insuline kan worden versneld [69]. Bij de erythrocyten schijnt de snelheid van de glycolyse uitsluitend bepalend te zijn voor de opname van glucose en niet de transportsnelheid [70].

Naast het glucose blijken ook andere stoffen de erythrocyten volledig in stand te kunnen houden of te herstellen, zoals inosine, adenosine etc. [71], waarop wij bij de fosfaatstofwisseling terug zullen komen. Deze stoffen hebben echter nauwelijks physiologische betekenis.

Het onderzoek der glycolyse door bloedcellen is ingeleid door LÉPINE [72], die reeds een verschil in activiteit tussen erythrocyten en leucocyten vaststelde. McLEAN [73] veronderstelde, dat de leucocyten glycolyse per cel $100-200 \times$ zo groot zou zijn als die der erythrocyten. De laatste jaren zijn deze verhoudingen opnieuw onderzocht, o.a. door BARTLETT [74], die berekende, dat de rijpe erythrocyten ongeveer 90% der glycolyse voor hun rekening namen, terwijl thrombocyten en reticulocyten niet van praktische betekenis waren. Reticulocyten hebben een glycolyse van ongeveer $6 \times$ die van de rijpe erythrocyten [75], zodat bij verhoogde waarden hiervan daarmede rekening moet worden gehouden.

Bij al deze experimenten in vitro kan de invloed der gebruikte techniek niet kritisch genoeg worden beoordeeld: met name de invloed van de pH, en het al dan niet aërobe milieu is belangrijk. De leucocytenstofwisseling wordt onder anaërobe omstandigheden snel geremd, terwijl die der erythrocyten hiervan geen invloed ondervindt [76].

De mate van glycolyse in vitro van bij 37°C geïncubeerd, onstolbaar gemaakt mensen bloed, werd reeds door SCHMITZ en GLOVER [77] op 15-20 mg glucose per 100 ml bloed per uur berekend, een grootteorde, die sindsdien door vele onderzoekingen werd bevestigd.

Een intacte glycolyse is noodzakelijk gebleken voor het in stand houden der verhoudingen van kalium en natrium in de erythrocyten en het omgevende plasma. Veranderingen in de koolhydraat-

stofwisseling hebben invloed op de electrolytensamenstelling der erythrocyten. Het is dan ook niet verwonderlijk, dat enerzijds bij verschillende bloedziekten een veranderde glucosestofwisseling kan worden vastgesteld, terwijl aan de andere kant de electrolytensamenstellingen vaak ook afwijkend blijken te zijn. Zo vond BURGER [78] reeds in 1930 een verhoogde glycolyse bij de pernicioze anaemie. Bij de hereditaire, niet-spherocyttaire haemolytische anaemie, type II, werd een te hoog gehalte aan 2,3-difosfoglycerinezuur gevonden, een tussenschakel bij de afbraak van glucose, samengaande met een hoog intracellulair gehalte aan kalium [75]. Bij de hereditaire spherocytose van MINKOWSKI-CHAUFFARD daarentegen, werd naast een fosforyleringsstoornis van het adenosine-difosfaat tot adenosine-tri-fosfaat een laag kaliumgehalte in de erythrocyten gevonden [79].

Bij sommige verworven haemolytische anaemieën werd weer een verhoogde fosforyleringsactiviteit [80] en glycolyse [75] gevonden, terwijl soms ook een verlaagd gehalte aan glutathion, een sulphydrylgroep bevattend aminozuur, werd vastgesteld [81]. Glutathion zou de glycolyse remmen [82], evenals cortison. Mogelijk is deze remming een verklaring voor de vaak gunstige werking van cortisonderivaten op de haemolyse bij verschillende bloedziekten, waarbij een verhoogde glycolyse kan worden gevonden.

Dat verworven haemolytische anaemieën ook gepaard kunnen gaan met een vertraging der glycolyse werd door CARSON [83] gevonden, die bij 10% der mannelijke Amerikaanse negers in de erythrocyten een verlaging der glucose-6-fosfaat-dehydrogenase activiteit naast een verlaagd gehalte aan glutathion vaststelde. Dit ging samen met een overgevoeligheid voor haemolyse-verwekkende stoffen als sulfanilamide, phenacetine, acetanilide, nitrofurantoin, primaquine, etc. De haemolyse hierbij werd voorafgegaan door een plotselinge sterke daling van het gereduceerde glutathion.

Hoewel het intracellulaire kaliumgehalte van deze erythrocyten niet werd bepaald, is ook hiérbij misschien een veranderde concentratie er van te vinden, gezien de verlaging aan intracellulair kalium bij niet verder aangeduide haemolytische anaemieën, zoals door SELWYN en DACIE vermeld. [75]. Deze schrijvers vonden verder een verhoging van het kaliumgehalte in reticulocyten.

HOLLINGWORTH [84] vond een sterke variatie in de glycolyse door erythrocyten bij bepaalde ziekten. Zo hadden de rode cellen van een patiënt met hypoglycaemische aanvallen een zeer sterke

glycolyse. Bij de door hem onderzochte haemolytische anaemieën bleek er enige correlatie te bestaan tussen het aantal reticulocyten en de glycolyse. Echter bleken de erythrocyten van een patiënt met een homozygote haemoglobine C-ziekte ook zonder reticulocytose een zeer sterke glycolyse te vertonen.

Verder bleek na splenectomie de glycolyse door de rode cellen bij een geval van hereditaire spherocytose ook na normalisering der reticulocyten hoog te blijven. Sporadische gevallen van verhoogde glycolyse vond hij verder bij hereditaire, niet-spherocyttaire anaemie, sikkcelcellenanaemie, verworven haemolytische anaemie en paroxysmale nachtelijke haemoglobinurie.

ULTMANN [85] vond een verhoogde glycolyse in bloed van patiënten lijdende aan maligne tumoren. De overlevingsduur der erythrocyten was hierbij verkort. Ook bij pernicieuze anaemie en spruw werd een verhoogde glycolyse vastgesteld.

Hiertegenover vond MUIRHEAD [86] bij honden een duidelijk verlaagde glycolyse na dubbelzijdige nephrectomie tijdens een poging chronisch nierlijden na te bootsen.

Dat een verstoring der glycolyse van ingrijpende betekenis is voor de erythrocyten, ook wat hun concentratie aan kationen betreft, blijkt bij diabetes mellitus [87], waar tijdens acidose een verlaagd gehalte aan kalium in de rode cellen wordt gevonden. MAIZELS [88] vond bij proeven in vitro, dat bij remming der glycolyse, bv. door koude, meer natrium in de erythrocyten werd opgenomen dan kalium afgestaan, en wel ongeveer $2 \times$ zo veel. Er ontstond hierdoor een hogere intracellulaire concentratie aan electrolyten, die een waterverplaatsing naar de cellen ten gevolge had.

De erythrocyten benaderden hierdoor meer de bolvorm, met tot gevolg een verlaagde osmotische resistentie en sneller erythrolyse. Op grond hiervan kan men verwachten, dat sphaerocyttaire vormen bij remming der glycolyse sneller tot erythrolyse zullen overgaan dan normale erythrocyten.

Het is verder mogelijk, dat dit verschijnsel van snellere natrium-opname dan kaliumafgifte bij remming der glycolyse ook in de milt plaatsvindt, waar o.a. de volgende factoren een rol kunnen spelen:

(a) de stagnatie der bloedstroom, waardoor er minder glucose-toevoer zal zijn, en de stofwisselingsproducten eveneens minder worden afgevoerd. Dit veroorzaakt een pH-daling, zodat in de

erythrocyten spoedig een verminderde glycolyse moet plaatsvinden, wat tot vorming van spherocytose zal leiden, en

(b) het feit, dat in de milt veel acetylcholine aanwezig blijkt te zijn [89], waarvan de betekenis niet duidelijk is. De erythrocyten bevatten een belangrijke hoeveelheid cholinesterase [90]. Volgens TORP [89] zou door splitsing van het acetylcholine in de milt tot azijnzuur, de pH eveneens dalen. Deze dubbele pH-daling betekent een ernstige bedreiging voor de erythrocyten, o.a. door de chlorideshift [blz. 15], terwijl door GUEST [87] is aangetoond, dat een daling der pH van 7,4 tot 7,2 in het plasma al een sterke remming der glycolyse kan teweegbrengen.

Het ligt voor de hand aan te nemen, dat bij hypersplenie deze factoren in versterkte mate aanwezig zijn, zodat de oude opvatting van NAEGELI [91], dat elke erythrocyt in de milt de sphaerocyttaire vorm zou verkrijgen, weer actualiteit krijgt.

C. DE KALIUM- EN NATRIUMSTOFWISSELING DER ERYTHROCYTEN

Experimentele gegevens

Hoewel de erythrocyten, als gemakkelijk te verkrijgen materiaal, reeds driekwart eeuw het object zijn van intensieve studie, werd pas in 1941 ontdekt, dat ze niet ondoordringbaar waren voor kalium- en natriumionen. Dat de rode bloedcellen gemakkelijk doorlaatbaar waren voor water, chloride- en bicarbonaationen was toen reeds lang bekend.

In 1941 deelde DANOWSKI [92] mede, dat hij bij proeven in vitro met bloed het samengaan had opgemerkt van het glucoseverbruik der erythrocyten met een kaliumopname in deze cellen. Na verdwijnen van het glucose uit het plasma trad een uittreden van kalium uit de rode cellen op, dat weer te niet kon worden gedaan door opnieuw glucose toe te voegen. Deze glycolyse door de erythrocyten deed het glucose in ongeveer 6 uur verdwijnen. Bij onregelde diabetes mellitus was de glycolyse verlaagd en verlengd.

WILBRANDT [93] vestigde in dezelfde tijd de aandacht op de noodzaak van een intacte koolhydraatstofwisseling der rode cellen voor de handhaving van hun intracellulaire concentratie aan kalium en natrium. Door natriumfluoride, dat de glycolyse remt, of door koude werd kaliumopname in de erythrocyten verhinderd. Door het natrium-fluoride schrompelden de cellen tevens, in tegenstelling

met celzwellling door koude. Door incubatie bij 37°C in een glucosehoudend milieu konden de veranderingen aan intracellulaire electrolyten- en waterconcentraties worden hersteld.

Ook andere suikers en stoffen als adenosine en inosine gaven dezelfde verbeteringen [94]. Behalve glucose kunnen ook mannose en fructose als energiebron van de rode cellen dienen, waarbij echter bleek, dat het fructose bij concentraties onder de 200 mg.% veel minder gemakkelijk werd verbruikt dan bij hogere concentraties [95]. De suikers arabinose, xylose, maltose en lactose blijken geen noemenswaardige energiebronnen voor de erythrocyten te zijn, hoewel hun passagesnelheid door de erythrocytenmembraan groot is. Het electrolytentransport door de erythrocytenmembraan werd door toevoegen van deze suikers nauwelijks beïnvloed [95].

De toepassing van radioactieve isotopen verstrekke inlichtingen over een gelijktijdige uitwisseling van kalium en natrium tussen de rode cellen en het omgevende milieu. Deze opname bleek langzaam te verlopen, vergeleken met de resultaten gevonden bij andere lichaamscellen. Zo vond SHEPPARD [96] in 1950 een uitwisselingsnelheid van K^{42} tussen menselijke erythrocyten en plasma van 1,8% der intracellulaire concentratie aan kalium per uur. Door metingen bij verschillende temperaturen bleek de uitwisseling per 10°C stijging 2,35 maal zo groot te worden. Een viervoudige verhoging der concentratie aan kalium in het plasma had geen enkele invloed op de uitwisselingssnelheid, evenmin als oxygenatie of reductie van het haemoglobine. Wel zou een decalcificatie van het bloed de uitwisselingssnelheid storen [97], hoewel dit door anderen niet kon worden bevestigd [98].

Bij proeven in vitro vond MAIZELS [95] geen effect van verschil in glucoseconcentraties tussen 30 en 400 mg/ml op de kalium- en natriumuitwisseling der rode cellen. Wel wordt steeds weer gewezen op het belang der pH voor de glycolyse en het electrolytentransport van het bloed.

Zo vond MAIZELS bij zijn experimenten bij een pH van 7,1 van de incubatievloeistof een glucoseverbruik per liter cellen per uur van 0,65 m mol, corresponderend met 1 m mol natrium wat uit de rode cellen werd uitgedreven, tegen 0,8 m mol bij een pH van 7,3.

GUEST [87] vond bij een pH-daling van 7,4 tot 7,2 een sterke remming der bloed-glycolyse, SHERWOOD-JONES [99] vond een

uittreden van kalium uit de rode cellen bij een lichte acidose, PONDER [100] vond bij een pH in het plasma kleiner dan 7,15 een uittreden van kalium uit de erythrocyten in plaats van opname. Overigens bleek uit zijn experimenten een weinig fysiologisch maximum van kaliumopname bij een pH van 7,6, terwijl bij ontbreken van energierijke stoffen ook het hierdoor ontstane kaliumverlies uit de cellen het kleinste was bij deze pH.

De meeste gegevens over de invloed van het extracellulaire kalium- en natrium op de uitwisseling van deze ionen door de erythrocytenmembraan komen van MAIZELS, samengevat in 1954 [101].

Bij experimenten *in vitro* had hij gevonden, dat bij zeer lage intracellulaire natriumconcentraties, kleiner dan 5 m aeq/liter cellen, verkregen door bewaren der erythrocyten in een natriumvrij medium bij 4°C, na hieropvolgende incubatie in een fysiologisch medium, geen actief kalium- of natriumtransport meer plaats vond, terwijl ook een kaliumconcentratie in het omgevende medium, kleiner dan 1 m aeq/liter, de uitwisselingssnelheid van natrium tussen erythrocyten en medium vertraagde. Het natriumtransport uit de rode cellen blijkt dus afhankelijk van een minimale externe kaliumconcentratie. Verder vond MAIZELS, dat bij het passieve electrolytentransport (koude, ontbreken van voedingsstoffen), het natrium-ion ongeveer twee maal zo snel uitwisselde als het kalium-ion, ondanks het feit, dat het gehydrateerde natrium-ion groter is dan het kalium-ion. Wellicht hangt dit samen met de sterkere binding van het kleinere kalium-ion aan de negatief geladen eiwitmoleculen der erythrocytenmembraan.

Maar ook bij het actieve electrolytentransport wordt volgens Post [102] het natrium sneller uitgewisseld dan het kalium. Hierbij zou er volgens deze auteur een zeer duidelijke wederzijdse afhankelijkheid tussen de transportsystemen van deze electrolyten bestaan, waarbij steeds 2 kalium-ionen in de erythrocyten worden opgenomen tegen 3 natrium-ionen uitgescheiden.

Ook het haemoglobine blijkt van belang te zijn voor het evenwicht van natrium- en kalium tussen plasma en rode bloedlichaampjes. Zowel de graad van oxygenatie als de pH van het omringende milieu bewerken een verandering van het kation-bindend vermogen van het haemoglobine. Zo bedraagt volgens ADAIR [103] bij een oxygenatie van het haemoglobine van 75%, het kation-bindend vermogen per liter rode cellen 25,4 m aeq bij een pH van 7,1 —,

terwijl bij een pH van 7,2 dit vermogen tot 38,2 m aeq zou zijn gestegen.

Ook dient rekening gehouden te worden met het feit, dat oxyhaemoglobine een groter kation-bindend vermogen heeft dan gereduceerd haemoglobine, door het verschil in isoelectrisch punt (6,6 voor HbO_2 ; 6,8 voor Hb), en de hiermee verbonden chloride-shift van HAMBURGER.

Uit deze gegevens blijkt duidelijk, dat het van groot belang is, of men de bestudering der kalium- en natriumevenwichten tussen erythrocyten en plasma uitvoert in arterieel dan wel veneus bloed en bij welke pH dit geschiedt.

De anionen blijken echter bij de koolhydraat en kalium-natrium-stofwisseling der erythrocyten niet rechtstreeks betrokken te zijn, wat kort geleden door HARRIS [104] nog eens werd onderstreept.

Bij proeven van bloed in vitro is het noodzakelijk, de CO_2 -concentratie zo constant mogelijk te houden, daar bij ontsnappen hiervan een alcalose ontstaat, met vergroting der kation-binding in de erythrocyten. Door doorleiden van koolzuur of door het ontsnappen hiervan tegen te gaan, bv. door bedekken van het bloed met vloeibare paraffine, kan de CO_2 -spanning constant gehouden worden, resp. langer gehandhaafd blijven op het oorspronkelijke niveau.

Het belang van de CO_2 -concentratie wordt geïllustreerd door de waarnemingen van JORDAN [105], later bevestigd door HAM [106], dat erythrocyten bij gevallen van paroxysmale nachtelijke haemoglobinurie na toevoegen van CO_2 in vitro, spontaan lyseren in aanwezigheid van complement.

In het licht der huidige kennis van de physiologie der erythrocyten kan dit verschijnsel misschien worden verklaard door de combinatie van remming der glycolyse door de dan optredende acidose, met verhoogde opname van kationen in de rode cellen, en een toename van celwater door de optredende chlorideshift.

Pathologische omstandigheden

Uit de literatuuropgaven blijkt bij acidose het kalium- en natriumgehalte der erythrocyten [109] verlaagd te zijn.

DANOWSKI [108] vond bij diabetische acidose celvolume vergroting, en een duidelijke verlaging van het kalium- en natriumgehalte der erythrocyten. Het kaliumgehalte in de rode cellen steeg snel bij verbetering der acidose, wat ook door KEITEL [109] werd gevonden.

Ook GUEST [87] vond een verlaagd kaliumgehalte, terwijl SHERWOOD JONES [110] kortgeleden mededeelde, dat erythrocyten, bij een verlaagde pH geïncubeerd, in vitro kalium verloren en natrium en chloride naast water opnamen.

Over het effect van kalium-deficientie op het kaliumgehalte van erythrocyten, zijn slechts enkele tegenstrijdige gegevens bekend. Zo vond SCHWARZ [111] geen duidelijke kaliumdaling in deze cellen, evenmin als BLACK [112], in tegenstelling tot DAVIDSON [43] en ELIEL [113].

LANS [48] vond een verlaagd kaliumgehalte der erythrocyten bij enkele onderzochte geopereerde patiënten. KNOWLES [114] vond in de erythrocyten bij hyponatriaemie (106 m aeq/l) een verlaging van kalium en natrium, by hypernatriaemie (161 m aeq/l) een duidelijke stijging van het kalium- en natriumgehalte. Het verband tussen het natriumgehalte in het plasma en de kalium-concentratie in de erythrocyten bleek lineair te zijn. Echter werden deze waarden niet in celwater uitgedrukt.

KEITEL [59] vond dat bij kaliumverlies uit het lichaam een gelijktijdige daling van het kaliumgehalte der erythrocyten optrad.

DAVIDSON [43] vermeldde een patiënt met hypokaliaemie, waarbij het kaliumgehalte der erythrocyten 87,2 m aeq/l was. HARRISON [115] vond bij meningitis tuberculosa een sterke toename van het natriumgehalte der erythrocyten bij een normaal kaliumgehalte ervan.

D'AMICO [63] en RIECKER [116] vonden een duidelijke toename van het natriumgehalte in de rode cellen bij decompensatio cordis naast een verhoogd kaliumgehalte in de zeer ernstige gevallen, waarbij een mogelijk aldosteroneffect werd gesuggereerd. Ook bij essentiële hypertensie bleek het natriumgehalte der rode cellen verhoogd te zijn.

BOEKELMAN [64] vond hetzelfde verschijnsel bij hyperthyreose.

CLIFFORD [117] vond, dat bedrust reeds voldoende was om het kaliumgehalte der erythrocyten bij willekeurige patiënten significant te vermeerderen, terwijl het kaliumgehalte van erythrocyten van gedigitaliseerde hartpatiënten sterk daalde.

Het effect van insuline op het kaliumgehalte der erythrocyten in vivo, bij behandeling van diabetische acidose, werd nagegaan door NICHOLS [58], die na insulinetoediening een stijging van het kaliumgehalte hierin aantoonde. Hij schreef dit echter in hoofd-

zaak toe aan een hierbij optredend waterverlies, gepaard gaande aan een natriumuittrekking uit de erythrocyten.

NICHOLS vond tevens een correlatie tussen de veranderingen in de totale intracellulaire kationen-concentratie en water en die der erythrocyten, zodat de erythrocytensamenstelling een afspiegeling leek te zijn van die van het gehele lichaam.

Over de invloed van bijnierschorssteroiden op de kalium- en natriumstofwisseling der erythrocyten is eveneens weinig bekend.

SHERWOOD JONES [118] vermeldde, dat desoxycorticosteron de natriumuitdrijving in vitro sterk remde, evenals de kaliumopname; cortison zou geen invloed hebben.

STREETEN en SOLOMON [119] onderzochten het effect van ACTH, cortison en hydrocortison op erythrocyten in vivo en in vitro. Bij een ACTH-infuus in 50% glucose (20-25 E in 8 uur) bleek na 3 uur het kaliumgehalte der erythrocyten te dalen, 8 uur na het begin boven de beginwaarde te zijn gestegen. Cortison en hydrocortison parenteraal toegediend, gaven een onmiddellijke stijging te zien.

Bij een patiënt met de ziekte van ADDISON met een lage beginwaarde (87,9 maeq/liter erythrocyten) ontstond eveneens een duidelijke kaliumstijging door hydrocortison. Tijdens de corticoïden toediening steeg het volume der rode cellen parallel aan de kaliumopname.

In vitro bleek hydrocortison een remmende invloed te hebben, zowel op de kaliumopname als op de uittrekking hiervan. Echter bleek dit effect even groot op de uittrekking als op de opname, zodat er in vitro geen kaliumverlies kon worden aangetoond.

HALLMANN [120] vond na toediening van doca een verminderd kaliumgehalte der erythrocyten zonder compensatoire natriumstijging.

Een merkwaardig verschijnsel vermeldde SCHATZMANN [121] bij proeven op erythrocyten met digitalispraeparaten. Hierbij bleek een remming der kalium- en natriumuitwisseling te ontstaan, onafhankelijk van de glycolyse. SCHATZMANN meende, dat er een competitie-effect met een kalium-natrium-carrier-complex in het spel zou zijn.

Dit verschijnsel werd eveneens gevonden door SOLOMON [122], terwijl CLIFFORD [117] een sterke daling van het kaliumgehalte in de erythrocyten vond na digitalisering van hartpatiënten.

D. DE FOSFAATSTOFWISSELING DER ERYTHROCYTEN

Uit het onderzoek van EMBDEN, MEYERHOF, DISCHE etc. over de glycolyse in verschillende weefsels, blijkt duidelijk, dat de glucose-afbraak aan een fosforyleringsproces is gekoppeld. Het in het geval van de erythrocyten noodzakelijke fosfaat wordt voor een gedeelte uit het omringende milieu verkregen. De snelheid van opname is ongeveer 100 maal zo langzaam als die van de andere anionen zoals Cl^- , HCO_3^- , die vrij kunnen diffunderen [123] en bedraagt met P^{32} bepaald, ongeveer 2μ mol/ml cellen/uur [124]. Is het externe glucose verbruikt, dan gaat het anorganische fosfaat weer uit de erythrocyten verloren, zoals dit ook met kalium gebeurt.

Aërobe of anaërobe omstandigheden bleken geen invloed op deze P^{32} -opname te hebben [125].

Bij het vervolgen van het P^{32} in de verschillende fosfaatfracties der Embden-Meyerhof cyclus in de erythrocyten, bleek het P^{32} het snelst te worden opgenomen in de 2 : 3-Diphosphoglycerinezuur-fractie (verder 2 : 3-DPG genoemd), die in evenwicht is met het 1 : 3-difosfoglycerinezuur, en in het adenosine trifosfaat (ATP) [126]. Als verschil met de Embden-Meyerhof cyclus in andere weefsels bleek in de erythrocyten een hoge concentratie aan 2 : 3-DPG te bestaan, verbonden aan een actief enzym, het difosfoglycerinezuur-mutase, dat hoofdzakelijk in de erythrocyten voorkomt [127].

Naast de glucose-afbraak volgens de Embden-Meyerhof cyclus, blijkt deze in de erythrocyten ook plaats te kunnen vinden volgens de hexose-monofosfaat-shunt [128] en hier zelfs een belangrijke plaats in te kunnen nemen. Dit werd vooral door DISCHE [129] bestudeerd. Centraal is bij deze reactieprocessen, dat er hiervoor geen ATP vereist is, terwijl er toch ATP wordt gevormd. De aanwezigheid van deze shunt werd door de groep van GABRIO [71] in de kliniek benut om bloed, dat voor transfusiedoeleinden werd gebruikt, lange tijd goed te kunnen bewaren. Terwijl met de gebruikelijke conserveringsmiddelen het bloed één, hoogstens twee weken te bewaren is, werden door toevoegen van inosine reeds resultaten bereikt van enkele maanden conservering.

Inosine behoort tot een groep nucleosiden, waartoe ook adenosine, guanosine en xanthosine behoren. Deze stoffen bereiken allen na omzetting tot inosine via ribose-1-fosfaat en ribose-5-fosfaat de

Embden-Meyerhof cyclus ter hoogte van het glyceraldehyde-3-fosfaat [130].

Inosine kan via de hexose-monofosfaat-shunt glucose geheel vervangen, terwijl het tevens anorganisch fosfaat en kalium uit het omringende medium in de erythrocyten kan doen ophopen [126, 102]. Bovengenoemde nucleosiden zijn zelfs effectiever dan glucose.

Kalium wordt, zowel bij inosine- als glucoseverbruik door de rode cellen, gebruikt bij de omzetting van fosfo-enol-pyrodruivenzuur tot pyrodruivenzuur, laag in de keten der glycolytische reacties, waarbij het pyrodruivenzuur-fosfoferase door kalium- en magnesiumionen wordt geactiveerd. Hierbij blijkt de optimale concentratie aan kaliumionen 0,05 tot 0,015 mol. te bedragen [131].

PRANKERD vond dat bij lage kaliumconcentraties in de erythrocyten onder de 60 m aeq/liter cellen dit pyrodruivenzuur-fosfoferase werd geïnactiveerd [132]. Zulke extreem lage waarden zullen in vivo echter wel nooit worden bereikt.

De ontdekking van bovengenoemde processen heeft reeds tot klinische resultaten geleid, zoals het bewaren van bloed volgens GABRIO's methode. Maar ook in de physiopathologische processen der rode bloedlichaampjes werd meer inzicht verkregen.

Zo vond PRANKERD [132], dat de biconcave vorm der erythrocyten samenhang met een handhaven van de concentratie aan 2 : 3-DPG in de erythrocyt. Daalde deze, dan ontstond spherocytose, wat tot de veronderstelling heeft geleid, dat contractiele elementen in de rode cellen voor de biconcave vorm verantwoordelijk zouden zijn. Deze hypothese wordt gesteund door het feit dat in - normaal - bolvormige erythrocyten (os, geit), het stroma der erythrocyten-membraan nauwelijks glycolytische activiteit bezit, in tegenstelling tot het stroma van menselijke erythrocyten. Ook bij de hereditaire spherocytose werd een stoornis gevonden bij de 2 : 3-DPG omzetting [132]. Hier bleek de concentratie ervan eerder verhoogd door een verminderde 2 : 3 DPG afbraak, waardoor waarschijnlijk de lage concentratie aan ATP wordt verklaard. De concentratie aan anorganisch fosfaat was hierbij te hoog. Van mogelijk klinische betekenis is, dat door toevoeging van o.a. adenosine verbetering in de stofwisseling optrad. Interessant is ook, dat het stroma van deze erythrocyten zeer weinig actief was, wat een paral-

lel vertoont met de verhoudingen bij os en geit. Het tevens in deze cellen gevonden lage gehalte aan kalium [75] hangt misschien met deze lage activiteit samen.

Stoornissen in fosfatasen werden verder gevonden bij de galactosaemie, waar in de erythrocyten het galactose-1-fosfaat-transferase gestoord bleek te zijn [133], en recent bij enkele haemolytische anaemieën [83]. Hierbij bleek o.a. primaquine haemolyse te kunnen veroorzaken bij erythrocyten met een verlaagde activiteit aan glucose-6-fosfaat-dehydrogenase. Deze verlaging bleek in ongeveer 10% der mannelijke negers in de Verenigde Staten te bestaan, maar slechts tot haemolyse te leiden na contact met sommige medicamenten. Ook andere bevolkingsgroepen vertoonden een dergelijk beeld [134]. Belangrijk lijkt verder de mededeling van REES [135] die een snelle en duidelijke verbetering van de samenstelling van erythrocyten bij uraemie-patiënten waarnam na toediening van inosine.

Tenslotte blijkt de fosfaatstofwisseling der erythrocyten aan hormonale invloeden, zowel in vivo als in vitro, onderhevig.

In vivo wordt dit geïllustreerd door de levensduur der erythrocyten die bij hyperthyreose verkort kan zijn [136] of verlengd zoals bij myxoedeem [137].

In vitro vond GREGORCZYK [138] verminderde fosfaatopname door de erythrocyten na toediening van cortison, wat een parallel vertoont met de proeven van SHERWOOD JONES bij de kalium- en natriumuitwisseling van rode bloedcellen [118].

MACHO [139] vond een versneld glucoseverbruik door de rode cellen na toediening van schildklierhormoon, terwijl ERMANS [140] uit de beïnvloeding van de erythrocytenstofwisseling door de schildklier hierop zelfs een functietest baseerde met opname van P^{32} .

Voor verder experimenteel onderzoek op het gebied van verschillende stofwisselingsstoornissen lijkt de menselijke erythrocyt zeer geschikt, waarbij men echter steeds in het oog moet houden, dat een absolute parallel met andere weefsels niet zonder meer mag worden aangenomen.

METHODIEK

Zoals reeds in de inleiding werd gezegd, werden kalium-, natrium- en glucoseconcentraties in plasma en erythrocyten na afname van het bloed gedurende een periode van 26 uur onderzocht.

Achtereenvolgens zullen de volgende punten worden besproken:

- A. De afname van het bloed.
- B. De bepaling der uitgangswaarden.
- C. De behandeling van het bloed en de bepalingen op verdere tijdstippen.
- D. De bepalingen der intracellulaire waarden.
- E. De haematocrietbepaling.
- F. De vlamfotometrische bepaling van kalium en natrium.
- G. De nauwkeurigheid der vlamfotometrische analyses.
- H. De correctie der intracellulaire waterverschuivingen.
- J. De bepaling van het plasma- en celwater.
- K. De bepaling van het intercellulaire plasma.
- L. De glucose bepalingen.
- M. De statistische bewerkingen.

A. DE AFNAME VAN HET BLOED

De afname van het bloed geschiedde steeds bij de nuchtere, liggende patiënt uit de vena mediana cubiti, zonder stuwning, met een wijde, voliedig droge vleugelnaald. Een droge naald is bij afnemen van een kleinere hoeveelheid bloed van belang, daar een natte naald lichte haemolyse kan veroorzaken, met als gevolg een verhoogde waarde van het kaliumgehalte van het plasma.

Het is beslist noodzakelijk, het bloed bij de nuchtere patiënt af te nemen, daar de kaliumwaarde van het plasma na een maaltijd tot enkele milli-aequivalenten/liter kan stijgen. Zo vonden wij bij een persoon met een kaliumconcentratie van 4,0 m aeq/l een stijging tot 5,5 m aeq/l, 1 uur na een kaliumrijke maaltijd; gemiddeld

vonden wij 0,9 m aeq/l stijging bij een aantal patiënten. Ook in de literatuur komen deze verschillen tot uiting (141). De Natriumconcentratie daarentegen wordt door voedselopname niet meetbaar beïnvloed. 20–100 ml bloed werd op bovenbeschreven wijze afgenomen; er werd voor gezorgd, dat er geen bewegingen der armspieren werden verricht. Door spierarbeid komen nl vrij grote hoeveelheden kalium vrij.

FARBER [142] vond, dat na 10 maal openen en sluiten van de vuist een vermeerdering van gemiddeld 0,7 m aeq kalium per liter serum optrad. Stasis van het veneuze bloed door afsnoering der venen gaf volgens hem geen veranderingen in de kaliumwaarde van het serum. Ook wij vonden een duidelijke verhoging van het kaliumgehalte van het plasma, reeds na enkele malen sluiten der vuist.

Het bloed werd via een plastic slangetje in een 100 ml kolf opgevangen, waarin zich droog heparine (0,05 mg thromboliquine Organon per ml bloed) bevond onder een laag vloeibare paraffine, zodat het bloed geheel anaëroob werd opgevangen. Thromboliquine Organon werd gekozen, daar ons bij het vooronderzoek was gebleken, dat dit heparinezout het minste kalium en natrium bevatte. Vergeleken werden hiervoor heparine „Organon”, „Leo”, en „Vitrum”. Hierbij bleek het thromboliquine slechts sporen kalium en gemiddeld 2,8 mg% natrium te bevatten.

De anaërobe bloedafname, waarbij vloeibare paraffine werd gebruikt, werd om de volgende redenen gekozen:

(1) bij het blootstellen van bloed aan de buitenlucht verdwijnt in zeer korte tijd het CO_2 uit het plasma, wat een grote pH-verschuiving naar de alkalische kant tot gevolg heeft. De pH benadert hierbij snel de 8, zodat van een physiologische toestand geen sprake meer is.

Dit kan worden voorkomen door een $\text{O}_2\text{-CO}_2$ -mengsel door het bloed te leiden, terwijl dan tevens voor een constante waterdampconcentratie dient te worden gezorgd, om verdamping hiervan tegen te gaan. Dit is slechts in hiervoor ingerichte laboratoria mogelijk. Bovendien wijkt de CO_2 -spanning in het bloed soms af van de gebruikelijke 40 mm waarmee geen rekening wordt gehouden. Bij afname onder vloeibare paraffine wordt de oorspronkelijke pH gehandhaafd. Het nadeel hiervan echter is, dat bij langere incubatie door melkzuurvorming een lichte pH-daling optreedt, die na 24 uur maximaal ongeveer 0,2 kan bedragen (143).

(2) het bloed wordt door de paraffine efficient tegen mechanische beschadigingen door de glaswand beschermd, waardoor wij slechts zeer zelden en dan alleen na 26 uur haemolyse zagen optreden. Eerder dan 26 uur werd nooit meetbare haemolyse geconstateerd. De factor der mogelijke mechanische resistentievermindering werd hierdoor sterk gereduceerd. Juist met het oog meetbare haemolyse bleek volgens BERNSTEIN (144) een kalium toename in het plasma te veroorzaken van 0,18 m aeq/liter. De gevallen met zichtbare haemolyse werden geëlimineerd, met mogelijke kaliumstijging door niet zichtbare haemolyse hebben wij op grond van bovenstaande gegevens geen rekening gehouden.

(3) De aërobe verbranding van glucose tot $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ werd hierdoor verhinderd, zodat de invloed van de stofwisseling der leucocyten en reticulocyten werd verminderd. Een onzekere factor hierbij was echter de mogelijkheid van het optreden van het PASTEUR effect met een tijdelijk versnelde glycolyse [145].

De vloeibare paraffine bleek de kalium- en natriumconcentraties niet te beïnvloeden. Plasma werd onder vloeibare paraffine gedurende 2 weken in hard glas bewaard, waarbij geen veranderingen in de kalium- en natriumconcentraties werden gevonden. Werd echter zacht glas gebruikt, dan steeg de natriumconcentratie in korte tijd snel. Het is daarom van het grootste belang, slechts hard glas te gebruiken. Ons materiaal bestond uit Leerdam- en Schott-glaswerk.

Het reinigen van dit glaswerk dient steeds met de grootst mogelijke zorg te geschieden. Wij verrichtten dit steeds persoonlijk, waarbij het glas eerst gedurende 48 uur met bichromaat zwavelzuur werd uitgeloogd, hierop 24 uur met HCl werd gereinigd, vervolgens met kraanwater grondig werd schoongespoeld en ten slotte $3 \times$ met aqua destillata werd gereinigd. Er wordt dan geen kalium of natrium meer afgegeven.

B. DE BEPALING DER UITGANGSWAARDEN

Van het afgenomen bloed werd een portie zo snel mogelijk gecentrifugeerd, daar het uit de literatuur duidelijk was, dat er reeds snel een opname van kalium door de erythrocyten kon optreden. De scheiding van plasma en erythrocyten vond steeds binnen 10 minuten plaats en de hierbij gevonden waarde werd gelijk ver-

ondersteld aan de werkelijke beginwaarde, omdat bij enkele proeven de concentratie van kalium in het plasma na 3-4 minuten en 9-10 minuten niet meetbaar verschilde.

Het bloed werd hierbij eerst 3 minuten bij 8100 g (6000 toeren/min) gecentrifugeerd, het afgepipetteerde plasma hierna nog eens gedurende 5 minuten. Hierin werden dan geen erythrocyten meer gevonden.

Ook de stolling van bloed heeft invloed op de kaliumconcentratie van het plasma, wat blijkt uit het volgende experiment: bij 10 willekeurige personen werden naast elkaar de concentratie aan kalium en natrium in plasma vergeleken met kalium en natrium in serum waarbij het serum uit hetzelfde bloedmonster verkregen was. Voor het scheiden van het plasma was gemiddeld 7,5 minuten nodig, voor het verkrijgen van serum 25,5 minuten. Het kaliumgehalte van het serum bleek gemiddeld 4,55 m aeq/l, het kalium in het plasma 4,14 m aeq/l. Het verschil is significant (zie tabel 3) voor kalium, niet voor natrium. ($P = 0,05$).

TABEL 3

Kalium (m aeq/l)		Natrium (m aeq/l)		Tijd (minuten) afgerond	
Serum	Plasma	Serum	Plasma	Serum	Plasma
4,29	3,97	147,8	147,8	30	5
4,74	4,36	132,6	131,5	40	10
5,26	4,94	143,5	143,5	30	10
3,97	3,53	140,0	140,0	25	5
4,12	3,85	153,3	153,3	20	5
4,62	4,12	141,3	140,2	30	10
4,81	4,10	152,2	152,2	20	5
4,49	4,36	143,9	143,9	25	10
4,68	4,10	140,0	104,0	15	5
4,49	4,10	141,7	141,3	20	10
4,55	4,14	143,7	143,4	25,5	7,5 (gemiddeld)

Als verklaring is mogelijk laedering van erythrocyten bij het stollingsproces, mogelijk ook electrolyten uitwisseling tussen serum en erythrocyten. Ook in de literatuur vindt men een enkel onderzoek in deze richting. Zo vond VON LEPPÄNEN [146] de kaliumconcentratie in het serum bij 15 gevallen gemiddeld 6,75 mg% hoger

dan de kaliumconcentratie in het plasma, een getal, dat veel hoger ligt dan het onze.

Over het effect van de tijd tussen afneming en centrifugeren van het bloed wordt in de klinische literatuur nauwelijks gesproken. WEBSTER [147] vond, dat er bij onmiddellijk centrifugeren van het nog niet gestolde bloed een duidelijke kaliumstijging (– door haemolyse? –) ontstond ten opzichte van serum. 6 Uur na stolling bleek er een kleine significante daling in de kaliumwaarde van het serum te ontstaan, die na 12 uur weer geheel was opgeheven. Dus ook in gestold bloed blijken de erythrocyten het kalium nog op te kunnen nemen uit het omgevende serum.

C. DE BEHANDELING VAN HET BLOED EN DE BEPALINGEN OP VERDERE TIJDSTIPPEN

Nadat het bloed was afgenomen, werd het over verschillende 20 ml centrifugebuizen (doorsnede $2\frac{1}{2}$ cm) verdeeld, die allen vloeibare paraffine bevatten, het geheel bij 37°C (of 4°C) geïncubeerd en geregeld gekanteld.

Om technische redenen werd bij de meeste proeven van een continue homogene menging van plasma en erythrocyten afgezien; waar dit wel geschiedde, werd dit apart vermeld. Bij vergelijk van gelijktijdige continue en periodieke menging (kanteling per uur) werd bij 21 experimenten gemiddeld 4,7% hogere waarden gevonden voor de continue menging. Deze stijging liep parallel voor het glucose verbruik en de kalium- en natriumstofwisseling, zodat hiermee ook zonder continue menging een voldoende intensief contact tussen plasma en erythrocyten was aangetoond.

Uit deze monsters werden op gezette tijden de verschillende bepalingen verricht, zodat voor elke bepalingsgroep een ander monster bloed werd gebruikt. Steeds werden tevens bepalingen verricht op de tijdstippen 0, 3, 6 en 26 uur.

D. DE BEPALINGEN DER INTRACELLULAIRE WAARDEN

Ter bepaling van de kalium- en natriumwaarden van de erythrocyten worden 2 methoden gebruikt:

- 1) het rechtstreeks afpipetteren van de erythrocytenbrij en
- 2) het berekenen via een indirecte methode.

Beide methoden hebben hun vóór en tegen, en daar hierover zeer verschillend geoordeeld wordt (zie ROEGHOLT [17]), zullen beide methoden wat uitvoeriger worden besproken.

I. De rechtstreekse bepaling

Hierbij werd 1 ml erythrocytenbrij uit de onderste lagen der erythrocytenkolom opgezogen met een doorspoelpipet, zoals ook door ROEGHOLT gebruikt werd. Deze pipetten worden zo geijkt, dat ze nauwkeurig 1 ml bevatten, waarbij de taaie erythrocytenbrij met aqua destillata wordt uitgewassen, en een haemolysaat ontstaat.

Wij gebruikten een verdunning van 1 : 500, waarmee een snelle en volledige haemolyse werd verkregen.

Er zijn echter enkele bezwaren verbonden aan deze rechtstreekse methode:

(a) Het vereist grote nauwkeurigheid, de erythrocytenbrij tot de merkstreep op te zuigen, zonder te ver dóór te schieten, daar er een vrij grote kracht nodig is om de taaie brij op te zuigen. Een erythrocytenpipet van 1 ml heeft door zijn dunne lange hals, waarin de brei zeer langzaam opgezogen wordt, grote voordelen. Hiervan hebben wij dan ook gebruik gemaakt.

Hoe minder rest-plasma er tussen de erythrocyten na centrifugeren achterblijft, hoe taaier de brij wordt, zodat deze een grove maat is voor de mate van centrifugeren.

(b) Een theoretisch bezwaar is echter moeilijker te ondervangen, nl dat wat veroorzaakt wordt door de samenstelling der erythrocytenkolom. Door het centrifugeren zullen de lichtste erythrocyten in hoofdzaak in de bovenste lagen terecht komen. Hieronder vallen met name de reticulocyten, die een andere samenstelling van water en electrolyten bevatten. Door dus uit de onderste laag der erythrocyten af te pipetteren, krijgt men een samenstelling, die niet representatief is voor de gehele erythrocytenpopulatie en hiervan zelfs duidelijk kan afwijken. Zo vonden KEITEL [59] en JOYCE [148] een duidelijk verschil in samenstelling der verschillende lagen.

(c) Verder speelt het intercellulaire plasma een rol van betekenis, met name bij de natriumbepalingen. Hoe groter de centrifugale kracht, hoe minder intercellulair plasma aanwezig zal zijn, zodat men aan het eind der erythrocytenkolom minder plasma zal vinden dan aan de top. Het is van het grootste belang, bij de natriumbepalingen zo weinig mogelijk intercellulair plasma te verkrijgen, daar dit door zijn $10 \times$ zo grote concentratie een

enorme fout kan betekenen. Om deze redenen is dus een grote centrifugale kracht en langdurig draaien noodzakelijk, waarbij de erythrocyten echter afgesneden worden van hun energietoevoer (glucose) en spoedig dus van samenstelling willen veranderen.

Tenslotte is het onmogelijk een juist getal aan te geven voor de hoeveelheid „restplasma”, die tussen de erythrocyten gevangen zit, daar deze naar de bodem der erythrocytenkolom toe, vermindert. Indien men in de gehele erythrocytenkolom bv. 2% restplasma vindt, zal dit in de laagste gedeelten zeker minder, in de hoogste zeker meer zijn. Voor zeer nauwkeurige electrolytenbepalingen in de erythrocyten kan deze methode dus niet voldoen.

II. *De indirecte methode*

Hierbij bepaalt men het gehalte aan kalium en natrium in plasma en in gehaemolyseerd totaal bloed, naast de haematocrietwaarde.

Met de formule I:

$$E_e = \frac{E_s - (1 - \alpha) E_p}{\alpha}$$

bepaalt men de concentratie in de erythrocyten.

Hierin stellen E_s en E_p resp. het electrolytgehalte per volume-eenheid in totaal bloed en plasma en α de haematocrietwaarde voor. E_e is het electrolytgehalte per volume-eenheid erythrocyten.

Deze methode heeft de volgende voordelen boven de directe:

(a) het totale bloed heeft een vrijwel gelijke concentratie aan kalium als aan natrium, de viscositeit is aanmerkelijk lager dan die van de erythrocytenbrij. Bij de vlamfotometrische bepaling hiervan treden hierdoor geen moeilijkheden op. De kalium- en natriumwaarden van plasma en totaal bloed zijn nauwkeurig te bepalen.

(b) De tijd, nodig voor het scheiden van plasma en erythrocyten is zeer kort, minder dan 10 minuten na afname van het bloed bij onze proefopstelling, zodat er geen aantoonbare electrolytverschuivingen optreden.

(c) Het verloop in de samenstelling van de erythrocytenkolom speelt geen rol.

(d) Voor onze proefopstelling waren nog de volgende punten van belang: Voor het nagaan der kalium- en natriumverschuivingen in hetzelfde bloed gedurende zekere tijd, behoeft het kalium- en natriumgehalte van het totale bloed, en het watergehalte ervan

slechts éénmaal te worden bepaald, daar het water- en electrolyten-gehalte van het totale bloed niet verandert en steeds van formule I wordt gebruikt gemaakt.

Tevens geeft het verschil in haematocrietwaarden de water-verschuiving tussen cellen en plasma aan. (zie H.).

Nadelen van deze methode zijn de volgende:

(a) de methode is wat omslachtiger en tijdrovender dan de directe.

(b) in het totale bloed worden ook de electrolyten der andere vormelementen mee bepaald. Deze kunnen onder pathologische omstandigheden (sterke leucocytose etc.) van invloed zijn op de electrolytconcentraties. Onder normale omstandigheden speelt hun aanwezigheid geen rol. De leucocytenlaag is in de haematocrietbuisjes zo scherp van die der erythrocyten gescheiden, dat het erythrocytenvolume nauwkeurig kan worden afgelezen.

(c) Er worden 3 grootheden bepaald, met dus 3 mogelijkheden van fouten, nl. de waarden van het totale bloed, van het plasma en van de haematocriet.

Bij de beoordeling van de betrouwbaarheid der met formule I verkregen uitkomsten moet worden opgemerkt dat a) een zeer kleine waarde van α deze waarde relatief onzeker maakt en dus in het algemeen tot grote fouten in de uitkomst kan leiden en b) dat bij ongeveer gelijke waarden van E_s en E_p , naast α waarden om de 50%, een zeer kleine uitkomst wordt verkregen, waarop de waarnemingsfouten van E_s en E_p grote invloed zullen hebben.

De fouten van de bepalingen van het totale bloed en plasma zijn echter zeer veel geringer dan die welke bij de rechtstreekse methode optreden, met name door verschil in viscositeit der vloeistoffen (zie F; a en b).

De haematocrietwaarde blijkt echter bij de indirecte natriumbepalingen der erythrocyten van het grootste belang te zijn door de elkaar benaderende waarden in de teller van formule I.

Ter beoordeling van de nauwkeurigheid der indirecte methode werd een bepaling in 10-voud van het kalium- en natriumgehalte in plasma, van kalium- en natriumgehalte in totaal bloed en van de bijbehorende haematocrietwaarden uit éénzelfde bloedmonster verricht.

De uitkomsten werden in tabel 4 samengevat.

TABEL 4

	m aeq/l plasma		m aeq/l totaal bloed		haematocriet waarde α	m aeq/l erythrocyten	
	K	Na	K	Na		K	Na
1	4,10	144,3	48,7	81,7	47,2	98,1	11,7
2	4,10	144,3	48,7	81,7	47,1	98,3	11,4
3	4,10	144,3	48,7	81,7	46,9	89,7	10,8
4	4,10	144,3	48,7	81,7	46,5	99,5	9,7
5	4,10	144,3	48,7	81,7	47,0	98,5	11,1
6	4,10	144,3	48,7	81,7	46,3	99,9	9,1
7	4,10	144,3	48,7	81,7	46,7	99,1	10,4
8	4,10	144,3	48,7	81,7	48,8	98,9	10,6
9	4,10	144,3	48,7	81,7	46,2	100,1	8,8
10	4,10	144,3	48,7	81,7	46,6	99,3	9,5
Gemid- deld	4,10	144,3	48,7	81,7	46,9 $\pm$ 0,195	99,04 $\pm$ 0,67 99,04 $\pm$ 0,21	10,3 $\pm$ 2,95 10,3 $\pm$ 0,92

De spreiding (standaard deviatie) der waarnemingen werd met de formule

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \text{ berekend, waarbij } \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Hierbij werd voor het kaliumgehalte der erythrocyten als standaard deviatie der enkelvoudige waarnemingen 0,67 m aeq/l cellen gevonden en voor de standaard deviatie van het gemiddelde 0,21 m aeq/l. Voor het natriumgehalte van de erythrocyten werden resp. 2,95 m aeq en 0,92 m aeq/liter cellen gevonden.

Voor de practijk zal de keuze tussen rechtstreekse of indirecte methode vooral bepaald worden door de eisen, aan de nauwkeurigheid hiervan gesteld. Zoals gezegd, hebben wij van de indirecte methode gebruik gemaakt.

E. DE HAEMATOCRIETBEPALING

Daar deze bepaling van het grootste belang was, werd hieraan grote zorg besteed. De bepalingen werden aanvankelijk in 8-voud, later in 4-voud verricht. Er werden steeds dezelfde haematocrietbuisjes (HAMBURGER haematocrietbuisjes) gebruikt. Onmiddellijk na het pipetteren van het bloed in de buisjes, werd dit bedekt met

een dun laagje vloeibare paraffine, zodat verdamping werd verhinderd. Dit bleek in de praktijk veel eenvoudiger en nauwkeuriger dan bedekken met het gangbare rubberdopje. Hierop werden de buisjes gedurende 30 minuten bij 6000 toeren gedraaid. Het midden van elk centrifugebuisje was 13 cm van de centrifugeas verwijderd wat overeenkomt met een versnelling van 5200 g, terwijl de afstand van draaias tot de bodem der buisjes 20 cm bedroeg, overeenkomend met 8100 g. Op deze wijze werd voor 10 op hetzelfde tijdstip verrichte haematocrietbepalingen bij een gemiddelde van 46,9% een standaard deviatie van 0,195 % verkregen. De door GERBRANDY [149] beschreven moeilijkheden, o.a. over het geheel homogene mengen van het bloed, konden door ons niet worden bevestigd. Mogelijk is het gebruik van Westergren buizen en andere wijze van pipetteren (naald) naast de veel lagere centrifugekracht, de oorzaak van zijn grotere verschillen (1—2%).

F. DE VLAMFOTOMETRISCHE BEPALING VAN KALIUM EN NATRIUM

Bij de bepaling hiervan werd gebruik gemaakt van de zeer gevoelige vlamfotometer volgens KIPP, Delft, model 1954. Voor de foutenbronnen der vlamfotometrische bepaling wordt verwezen naar de literatuur [150, 151].

Daar de foutenbronnen hierbij echter van toestel tot toestel verschillen, zullen hier de voornaamsten, aan de hand van de beschrijving van het door ons gebruikte apparaat, in het kort worden genoemd.

De vlamfotometrische bepalingsmethode berust op het volgende principe:

De te onderzoeken vloeistof wordt met een constante snelheid in een stabiele kleurloze (propan)-vlam verstoven, waardoor de in de oplossing aanwezige alkali- en aardalkalimetalen hun kenmerkende spectra gaan uitzenden. Deze worden via een optisch systeem en selecterende filters op fotocellen geprojecteerd, die aangesloten zijn aan een galvanometer. De intensiteiten der spectra der te onderzoeken vloeistoffen worden vergeleken met de intensiteiten, verkregen door verstuiven van oplossingen van bekende sterkte van deze metalen.

Potentiële foutenbronnen konden worden gezocht in:

- a) de standaard oplossingen,
- b) de verdunningen van serum, plasma, totaal bloed of erythrocytenhaemolysaat,
- c) de verstuiver,
- d) de lichtfilters,
- e) de ijkcurve.

(a) *De standaardoplossingen*

Hierbij bleek het, dat de ijkcurven, geconstrueerd uit de galvanometrische uitslagen der standaardoplossingen, zowel voor kalium als voor natrium een practisch rechte lijn vertoonden (zie figuur 2 blz. 37). Afwijkingen hiervan bleken steeds te berusten op een onnauwkeurigheid in de bereiding der standaardoplossingen. Deze werden met natrium- en kaliumchloride pro analyse bereid. Uit de literatuur blijkt, dat de natriumlijn bij lagere concentraties bij sommige vlamfotometermodellen een flauw gebogen lijn kan vertonen, de kaliumlijn wordt bijna overal als rechtverlopend aangegeven.

Het is hierbij nuttig zich te realiseren, welke de invloed van verschillende samenstellingen van vloeistoffen op de emissie van kalium en natrium is. Dit is uitvoerig beschreven, ten onzent o.a. door WOLDRING 1952 [151] en ALKEMADE 1954 [150] waarnaar verwezen wordt en waaruit wij 2 belangrijke verschijnselen memoreren, nl.

- (1) de zg. zelfabsorptie en
- (2) de „mutual excitation”.

Voorals het laatste is van belang, daar hierdoor de natrium- en kaliumemissie door elkaar worden beïnvloed.

In het algemeen blijkt, dat de kaliumemissie sterker in positieve zin door natrium wordt beïnvloed dan omgekeerd, wat wordt veroorzaakt door de onderdrukking der kaliumionisatie door electronen, ontstaan door de ionisatie der natriumatomen (grotere Na-concentratie). Door de verminderde kaliumionisatie ontstaat een vergroting van het aantal uitstralende kaliumatomen en dus een groter galvanometrische uitslag. In verhoudingen van lage natrium- tot hoge kalium-concentratie blijkt echter wel degelijk een grote positieve fout in de natriumuitslag te ontstaan, wat dus bij de directe methode van natriumbepalingen in erythrocyten storend is.

ROEGHOLT [17] vermeldt, dat ook bij zijn bepalingen (experi-

mentele vlamfotometer) het kalium sterk door een 30-voudige natriumconcentratie werd beïnvloed ($\pm 15\%$), terwijl ook de natriumemissie door een 5-voudige kaliumconcentratie werd versterkt. Bij een verhouding 1 : 10 als in de erythrocyt wordt gevonden, zal deze laatste beïnvloeding ongetwijfeld nog groter zijn.

In verband met de bovengenoemde wederzijdse beïnvloeding werden door ons standaardoplossingen samengesteld volgens de te verwachten kalium- en natriumconcentraties van plasma en erythrocyten, die in de loop der incubatie kunnen ontstaan.

De volgende samenstellingen werden gebruikt:

Voor kalium in plasma: Daar het plasma $50 \times$ werd verdund, zodat gemiddeld 0,4 mg.% kalium kon worden verwacht bij een concentratie van ongeveer 6,6 mg.% natrium, werden hierbij gebruikt:

0,6 mg% kalium + 6,4 mg% natrium

0,4 mg% kalium + 6,6 mg% natrium

0,2 mg% kalium + 6,8 mg% natrium

Voor natrium in plasma: In 2500-voudige verdunning werd hiervoor gemiddeld 0,13 mg% gevonden, terwijl de invloed der kaliumconcentratie hierbij bleek te kunnen worden verwaarloosd, daar deze geen versterking der natriumemissie gaf.

Gekozen werden:

0,16 mg% natrium

0,13 mg% natrium

0,10 mg% natrium

Voor kalium in erythrocyten: In 500-voudige verdunning bleek dit gemiddeld 0,78 mg.% te bedragen. De natriumconcentratie hierbij had geen invloed op de kaliumemissie, zodat werden gekozen:

0,80 mg% kalium

0,76 mg% kalium

0,72 mg% kalium

Voor natrium in erythrocyten: Hiervoor werd een 50-voudige verdunning gebruikt, waarbij de concentratie ongeveer 0,60 mg.% natrium was. Gebruikt werden:

0,80 mg% natrium + 7,0 mg% kalium

0,60 mg% natrium + 7,5 mg% kalium

0,40 mg% natrium + 8,0 mg% kalium

Voor kalium en natrium in totaal bloed: Hun concentraties benaderden elkaar, in 500-voudige verdunning ongeveer 0,39 mg% kalium en 0,36 mg% natrium, zodat de volgende waarden werden gekozen:

0,44 mg% kalium + 0,44 mg% natrium

0,40 mg% kalium + 0,40 mg% natrium

0,36 mg% kalium + 0,36 mg% natrium

0,32 mg% kalium + 0,32 mg% natrium

(b) *De verdunningen*

Zoals reeds genoemd, werden de volgende verdunningen gebruikt:

voor plasma kalium 1 : 50,

plasma natrium 1 : 2500,

erythrocyten kalium 1 : 500,

erythrocyten natrium 1 : 50,

totaal bloed kalium + natrium 1 : 500.

Uit literatuuropgaven blijkt, dat bij de vlamfotometrische bepalingen van kalium en natrium een tendens bestaat tot steeds grotere verdunningen.

Terwijl aanvankelijk meestal 1 : 10 $\times$ verdund werd, worden nu reeds verdunningen tot 2500 $\times$ aangegeven. Hieraan liggen twee factoren ten grondslag: in de eerste plaats de steeds grotere gevoeligheid der vlamfotometers en in de tweede plaats de voordelen van een verminderde viscositeit bij grotere verdunningen. De invloed van de wisselende viscositeit kan worden uitgeschakeld door onteiwitten, met als nadeel de omslachtigheid en de kans op wijzigingen der electrolytenconcentratie door (adsorptie aan?) het neerslag.

Door sterke verdunningen kan de viscositeit worden verwaarloosd. Er zou wel het bezwaar van uitvlokken (der globulines) door verdunning met aqua distillata kunnen zijn; experimenteel bleken oude, uitgevlokte verdunningen van plasma geen verschil te geven met de vers bereide, nog niet uitgevlokte.

Bij onze werkwijze werden de vloeistoffen na verdunnen rechtstreeks verstoven. Het bleek ons met deze methode, dat bekende hoeveelheden kalium en natrium voor practisch 100% werden teruggevonden. Wij verrichtten hiertoe het volgende onderzoek:

Aan 1 ml. plasma waarvan het kaliumgehalte niet bekend was werd 1 ml 10 mg.% kalium toegevoegd. Het kaliumgehalte van

het oorspronkelijke plasmamonster werd $10 \times$ afzonderlijk bepaald, evenzo dat van het plasma waaraan het extra kalium was toegevoegd; dit bleek voor 99,86% te worden teruggevonden.

Op dezelfde wijze werd van toegevoegd natrium 100,82% teruggevonden bij een 10-malige bepaling. Ook voor de andere vloeistoffen werd een gelijke graad van nauwkeurigheid gevonden. Toch lijkt het ons, dat bij de rechtstreekse intracellulaire natriumbepalingen voorzichtigheid moet worden betracht, daar de viscositeit van het $50 \times$ verdunde erythrocytenhaemolysaat waarschijnlijk hoger ligt dan die der ijkvloeistoffen, wat ook bij wijde capillairen mogelijk van invloed kan zijn. Ook om deze reden gaven wij de voorkeur aan de indirecte methode

(c) *De verstuiwer*

Deze heeft tot doel de te onderzoeken vloeistof met een constante snelheid en dichtheid in de vlam te verstuiwen. Ze bestond bij onze apparatuur uit 2 loodrecht op elkaar geplaatste capillairen, waarvan de een met constante druk lucht toevoert en hierdoor vloeistof uit de andere capillair opzuigt. Het is daarbij noodzakelijk, dat de doorsnede der capillairen steeds even breed blijft, waarbij bredere capillairen het voordeel hebben, niet gemakkelijk verstopt te raken, terwijl variaties in de viscositeit der verstoven vloeistof dan geen invloed van betekenis meer hebben. Zeer belangrijk is hierbij de constante snelheid der luchttoevoer. De geringste schommelingen hierin bleken bij onze vlamfotometer reeds verschillen van één of meer schaaldelen op de galvanometer te kunnen geven.

Een lucht-propaanmengsel werd gebruikt in een hoeveelheid van 9 liter lucht op 3 liter propaan per minuut voor kaliumbepalingen en 9,25 liter lucht op 2,8 liter propaan per minuut voor die van natrium. Deze verschillende samenstellingen bleken optimale uitslagen op de galvanometer te geven.

Bij deze optimale verhoudingen bleek de emissie tevens het minst afhankelijk van kleine schommelingen in de drukverhoudingen te zijn; niettemin werden vóór elke bepalingssreeks deze verhoudingen gecontroleerd.

Een constante luchttoevoer werd verkregen door samengeperste lucht aan te voeren vanuit een groot reservoir, waarin de lucht op geregelde tijden werd samengeperst, zodat frequente wisseling van luchtcylinders kon worden vermeden. Deze lucht werd via

filters, persleidingen en 2 achter elkaar gesloten reduceerventielen aangevoerd en werd met een nauwkeurige vloeistofmanometer geregeld. Het propaangas werd via eenzelfde systeem uit cylinders aangevoerd.

Naar onze ervaring is de constante luchttoevoer van alle factoren, die de vlamfotometrische electrolytenbepalingen beïnvloeden, de allerbelangrijkste.

(d) *De filters*

Bij de door ons gebruikte apparatuur werden interferentiefilters gebruikt, die via een bepaald optisch systeem loodrecht met een evenwijdige lichtbundel worden doorstraald. Dit type filter is zonder enige twijfel het meest selectieve. Echter zijn er twee bezwaren aan verbonden, n.l:

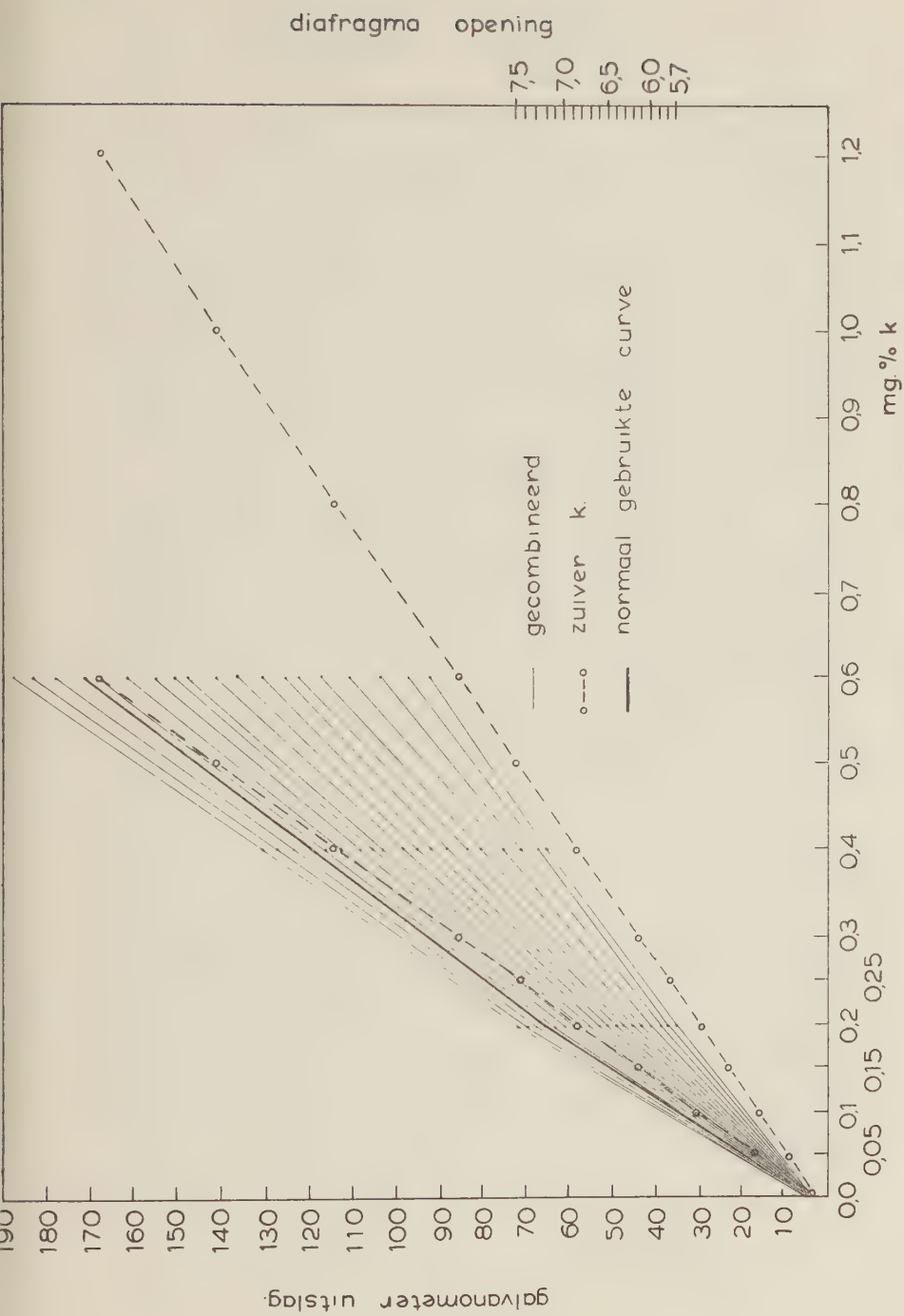
(a) ze is vrij kostbaar,

(b) er wordt slechts een gering gedeelte van het licht doorgelaten. Lagere concentraties kunnen niet worden gemeten zonder een zeer gevoelige en stabiele galvanometer. De gebruikte galvanometer (fabr. Kipp, Delft) had een gevoeligheid van $1 \cdot 10^{-10}$ amp./mm, schaallengte 200 mm. Hierdoor waren wij in staat, concentraties van 0.01 mg% kalium en 0.002 mg% natrium nauwkeurig te meten. De enige voorwaarde hiervoor was een constante luchttoevoer.

In figuur 2 werden de ijkcurven uitgezet, verkregen met zuivere kaliumoplossingen in verschillende concentraties en bij verschillende diafragmaopeningen. Deze bleken geheel lineair te verlopen bij concentraties van 0,0 tot 1,2 mg%. De gecombineerde oplossingen (zie blz. 33) bleken als flauw gebogen curven te verlopen, die echter in het door ons gebruikte metingsgebied (0,2–0,6 mg% kalium) practisch rechtlijnig waren (171–118–65 mm).

Voor het natriumgehalte in het plasma werden in dezelfde zin 171,– 140,– 109– en 5 mm gevonden voor concentraties van 0,16–0,13, – en 0,10 mg%. Deze waarden werden gedurende de gehele duur der onderzoeken gevonden; alle waarnemingen zijn dus onderling vergelijkbaar. De ijkcurven voor totaal bloed en erythrocytenbepalingen werden niet gestandariseerd, daar deze veel minder vaak werden gebruikt. Deze moesten dus steeds opnieuw worden uitgezet.

De K- resp. Na-filters bleken volledig selectief te zijn, zoals de volgende proef demonstreert:



Figuur 2. *I*-*f*-curven van enkelvoudige kalium oplossingen van 0,0 tot 1,2 mg % en van gecombineerde oplossingen met 0,2 mg % K + 6,8 mg % Na; 0,4 mg % K + 6,6 mg % Na en 0,6 mg % K + 6,4 mg % Na. Invloed van diafragma openingen 5,7-7,5 op galvanometer uitslag en curve verloop.

Oplossing	Kaliumfilter; mm uitslagen in schaal- delen	Natriumfilter; mm uitslagen in schaal- delen	Blanco
Kalium 0,5 mg%	175	5	5
Natrium 0,66 mg%	5	191	5

(e) *De ijkcurven*

Zoals reeds vermeld, werden de ijkcurven zo gekozen, dat ze overeenkwamen met gemiddeld 0,4 mg.% kalium en 0,13 mg.% natrium voor plasma en 0,4 mg.% voor kalium en natrium voor het totale bloed, terwijl voor de erythrocyten ongeveer 0,7 mg.% voor kalium en natrium werd gekozen. De ijkcurven waren hierbij steeds practisch lineair.

Daarbij werd steeds als volgt tewerk gegaan:

Na de controle der gunstigste verhoudingen van lucht en propaan, werd de ijkvloestof verstoven, waarbij het diafragma zo werd geregeld, dat de ijkvloestof voor plasmakalium met een concentratie van 0,6 mg.% kalium 171 mm uitslag op de galvanometer vertoonde. De corresponderende vloestoffen met 0,4 en 0,2 mg.% kalium bleken dan steeds een uitslag van 118 en 65 mm te vertonen, de blanco 5 mm. (Zie figuur 2).

Daar meestal een grote reeks kalium- of natriumwaarden tegelijkertijd werd bepaald, werd steeds tussen twee bepalingen de galvanometrische uitslag van de – het eerst onderzochte – vloestof, gecontroleerd. Deze als routine ingevoerde controle garandeerde een grote nauwkeurigheid en eiste tevens minder ijkvloestof.

Tussen twee bepalingen in werd tevens met deze vloestof „gespoeld”. Daar er in het gemeten traject een practisch lineaire verhouding bestond, werd het verantwoord geacht de corresponderende kalium- en natriumwaarden met de vergelijking $y = ax + b$ om te rekenen; deze werd op $y = 26,5x + 12$ berekend voor kalium en op $y = 10,3x + 6,1$ voor natrium. De hoge blanco waarde voor kalium (12 mm) vindt zijn oorzaak in de helling aan het begin der ijkcurve. Het aflezen der galvanometrische uitslagen werd tot op 0,1 mm geschat.

G. DE NAUWKEURIGHEID DER VLAMFOTOMETRISCHE ANALYSES

Daar het bij ons onderzoek kleine verschillen in kalium en natrium concentraties betrof, was het noodzakelijk zo nauwkeurig mogelijk te werken. Om de nauwkeurigheid der bepalingen van kalium en natrium in plasma te beoordelen, werden deze 2 maal in 25-voud verricht uit plasma van bekende samenstelling van deze electrolyten. Hierbij werden dus alle handelingen in 25-voud herhaald, welke het reinigen van het glaswerk, de pipetteringen, verdunningen en de aflezingen der galvanometeruitslagen omvatten. Voordien was reeds gevonden, dat de galvanometrische uitslagen van ijk-vloeistoffen met 0,01 mg % verschil voor kalium en 0,002 mg % verschil voor natrium geheel buiten elkaar vielen.

Uit deze bepalingen werd voor het kaliumgehalte van de plasma-monsters bij een uitslag van gemiddeld 104,7 en 106,8 mm op de galvanometer resp. 0,24 en 0,22 mm voor de standaard deviatie (spreiding) van het gemiddelde gevonden en voor de standaard deviatie der enkelvoudige waarnemingen 1,15 resp. 1,44 mm, wat procentueel berekend 0,21 en 0,23% fout voor de gemiddelde waarnemingen en 1,10 en 1,07% fout bij de enkelvoudige bepalingen betekent. Uit eenzelfde reeks waarnemingen werd voor de bepalingen van het natriumgehalte van het plasma bij een gemiddelde uitslag van 102,7 en 106,4 mm op de galvanometer een standaard deviatie van het gemiddelde van 0,26 resp. 0,24 mm gevonden, wat een procentuele fout van 0,25 en 0,23% voor het gemiddelde betekent en een fout van 1,1 en 1,2% voor de enkelvoudige waarnemingen. In m aeq/l omgerekend betekent dit voor een gemiddelde uitkomst van kalium van 4,0 m aeq/l, $4,0 \pm 0,0088$ en voor een enkelvoudige bepaling met dezelfde uitkomst $4,0 \pm 0,04$ m aeq/l, terwijl voor natriumbepalingen van gemiddeld 140,0 m aeq/l de fout op $140,0 \pm 0,35$ m aeq/l als standaard deviatie van het gemiddelde bedraagt en op $140,0 \pm 1,54$ m aeq/l voor de enkelvoudige bepaling.

Daar alle bepalingen steeds onder dezelfde voorwaarden werden verricht, hebben wij deze nauwkeurigheid als basis bij de beoordeling der experimenten genomen. De bepalingen werden als regel niet in duplo verricht. Waar deze als controle gedaan werden, werd nooit een aantoonbaar verschil in de duplo's gevonden.

Om een maat te krijgen van de reproduceerbaarheid der bio-

chemische processen, werden bij drie personen de waarnemingen met korte tussenpozen 3 maal herhaald, bij 4 anderen 2 maal, waarbij deze experimenten tevens in duplo werden verricht. De uitkomsten waren voor de duplo-bepalingen steeds geheel gelijk, en bleken ook zeer goed reproduceerbaar wat glycolysesnelheid en electrolytenverschuivingen betrof. De laatste uitkomsten laten wij hieronder volgen. Op grond van deze waarnemingen hebben wij voor de verdere onderzoeken enkelvoudige bepalingen verantwoord geacht.

TABEL 5

No.	uur	m aeq/k/l plasma				% K opname in 3 uur	dagen tussen- ruimte	diagnose
		0	3	6	26			
1		3,80	3,28	3,03	6,95	13,9	4	vermeerderde insuline gevoeligheid
		3,80	3,29	3,03	7,10	13,6	1	
		3,80	3,28	3,03	6,95	13,9		
2		3,88	3,46	3,89	6,66	10,8	7	normaal
		3,89	3,46	3,93	6,56	11,1	6	
		3,89	3,46	3,89	6,70	11,1		
3		4,38	3,65	3,77	5,05	16,7	4	hyperthyreose
		4,38	3,64	3,85	5,17	16,5	7	
		4,37	3,64	3,77	5,20	16,7		
4		4,44	3,89	3,71	6,50	12,4	7	diabetes mellitus
		4,45	3,90	3,71	6,46	12,4		
5		3,71	3,38	3,07	5,62	8,9	8	asthenie
		3,71	3,38	3,12	5,52	8,9		
6		4,28	3,73	3,66	5,50	12,9	6	hepatitis
		4,26	3,73	3,66	5,41	12,4		
7		4,23	3,31	3,46	6,41	21,8	2	alopecia totalis
		4,23	3,31	3,41	6,50	21,8		

H. DE CORRECTIE DER INTRACELLULAIRE WATER- VERSCHUIVINGEN

Daar bij de incubatie van een bloedmonster samen met de electrolytenverschuivingen een lichte waterverplaatsing van of naar de erythrocyten plaatsvond, was het noodzakelijk, deze veranderingen in plasma- en celwater te corrigeren. Dit geschiedde met behulp der celwaterindex. Deze is er op gebaseerd, dat in het door

paraffine afgedekte bloed geen water kon verdwijnen en dat de waterverschuivingen een verandering in volume der erythrocyten tot gevolg hadden (veranderd haematocrietgetal). Het haemoglobinegehalte der erythrocyten kan worden uitgedrukt in de formule:

$$H_e(t) = \frac{H_s - H_p (1 - \alpha(t))}{\alpha(t)}$$

waarin $H_e(t)$ = haemoglobineconcentratie¹ der erythrocyten op tijdstip t

H_s = haemoglobineconcentratie van het totale bloed (voor één monster constant),

H_p = haemoglobineconcentratie van het plasma

$\alpha(t)$ = haematocrietgetal op tijdstip t .

Daar het plasma een te verwaarlozen gehalte aan haemoglobine bevat, volgt hieruit

$$H_e(t) = \alpha(0) H_e(0) / \alpha(t),$$

zodat het Hb -gehalte van de erythrocyten uit de waargenomen grootheden in het rechter lid kan worden berekend.

Op dezelfde wijze kan de op p. 28 vermelde formule worden uitgebreid tot

$$E_e(t) = \{E_s - E_p(t) (1 - \alpha(t))\} / \alpha(t),$$

geldig voor willekeurige t . Om in de verplaatsing van electrolyten inzicht te verkrijgen werd nu nagegaan wat zou gebeuren als er wel uitwisseling van water, maar niet van electrolyt plaats vond. Dan is het gewicht $G_e(E)$ aan een electrolyt E in de massa der erythrocyten constant. Worden grootheden, onder deze hypothese berekend, ter onderscheiding door * aangegeven, dan geldt $G_e(E, t) = G_e^*(E, 0)$, of, wegens

$$G_e(E, t) = E_e(t) \alpha(t) V_s, \quad G_e^*(E, 0) = E_e^*(0) \alpha(0) V_s,$$

en de voor $E_e(t)$ gegeven formule,

$$E_e^*(0) = \{E_s - E_p(t) (1 - \alpha(t))\} / \alpha(0).$$

Het verschil $E_e(0) - E_e^*(0)$ is dan de hoeveelheid door de erythrocyten afgestane electrolyt (in mg per initiële volumeneenheid erythrocyten).

Het voordeel hiervan was, dat het gehele 26-uursverloop der electrolytenverschuivingen kon worden berekend uit slechts één bepaling van totaal bloed- en plasmawater en dat ook in die

¹ onder concentratie wordt hierbij verstaan het aantal gewichtseenheden per volumeneenheid.

gevallen, waar dit niet mogelijk was, de onderlinge verhoudingen toch konden worden gecorrigeerd. Echter blijkt ook hier weer, hoe belangrijk de waarden der haematocrietbepalingen zijn.

J. DE BEPALING VAN HET PLASMA- EN CELWATER

Hiertoe werden 1 ml totaal bloed, plasma of erythrocyten op een klein petri-schaaltje gepipetteerd, onmiddellijk na pipetteren gewogen en het drooggewicht hiervan opnieuw bepaald. Er trad hierna geen verder gewichtsverlies op. De reproduceerbaarheid van deze bepalingen was zeer goed, wat ook door anderen wordt aangegeven. [17].

K. DE BEPALING VAN HET INTERCELLULAIRE PLASMA

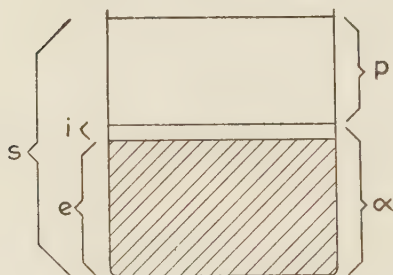
Over de bepaling hiervan, ook wel restplasma of „trapped plasma” genoemd, is in de Angelsaksische landen veel gepubliceerd, wat in ons land door ROEGHOLT uitvoerig werd besproken, zodat wij hiernaar verwijzen.

Daar de gangbare methoden, toevoegen van Evans Blue (T-1827), J^{131} , Na^{24} etc., omslachtig en onnauwkeurig zijn, werd door ons een andere methode ontwikkeld. Hierbij werd gebruik gemaakt van de uit de physica bekende definitie:

$$\text{volume maal soortelijk gewicht} = \text{gewicht}$$

Bij een gecentrifugeerde bloedkolom in een haematocrietbuis, kan men zich het intercellulaire plasma gescheiden boven de compacte laag erythrocyten voorstellen.

Men vindt dan de volgende verdeling (figuur 3)



waarbij p = plasmavolume der haematocrietbuis

α = haematocrietgetal

e = erythrocytenvolume

i = intercellulaire plasmaruimte

σ = soortelijk gewicht.

s = totale bloedvolume der haematocrietbuis

Het gewicht der kolom α = gewicht der kolom i + gewicht der kolom e . Daar gewicht = volume V maal soortelijk gewicht σ krijgt men:

$$\begin{aligned}
 V_{\alpha} \sigma_{\alpha} &= V_i \sigma_i + V_e \sigma_e \rightarrow \\
 &= V_i \sigma_p + (V_{\alpha} - V_i) \sigma_e = \\
 &= V_i (\sigma_p - \sigma_e) + V_{\alpha} \sigma_e, \text{ dus}
 \end{aligned}$$

$$V_i = \frac{V_{\alpha} \sigma_{\alpha} - V_{\alpha} \sigma_e}{\sigma_p - \sigma_e} \rightarrow \boxed{V_i = \frac{V_{\alpha} (\sigma_{\alpha} - \sigma_e)}{\sigma_p - \sigma_e}} \quad \text{I.}$$

de fractie α is af te lezen als de haematocriet waarde, het soortelijk gewicht ervan is in het soortelijk gewicht van het bloed σ_s uit te drukken:

$$\sigma_s = \sigma_p (1 - \alpha) + \sigma_{\alpha} \alpha \rightarrow$$

$$\sigma_{\alpha} \alpha = \sigma_s - \sigma_p (1 - \alpha) \rightarrow$$

$$\boxed{\sigma_{\alpha} = \frac{\sigma_s - \sigma_p (1 - \alpha)}{\alpha}} \quad \text{II.}$$

II gesubstitueerd in I geeft

$$V_i = \frac{V_{\alpha} \left\{ \frac{\sigma_s - \sigma_p (1 - \alpha)}{\alpha} - \sigma_e \right\}}{\sigma_p - \sigma_e} = \frac{V_{\alpha}}{\alpha} \left\{ \alpha - \frac{\sigma_s - \sigma_p}{\sigma_e - \sigma_p} \right\}$$

dus

$$\alpha \frac{V_i}{V_{\alpha}} = \alpha - \frac{\sigma_s - \sigma_p}{\sigma_e - \sigma_p}.$$

$$\text{Nu is } \alpha = \frac{V_{\alpha}}{V_s} \text{ dus}$$

$$\boxed{\frac{V_i}{V_s} = \alpha - \frac{\sigma_s - \sigma_p}{\sigma_e - \sigma_p}} \quad \text{III.}$$

Bepalingen:

Het soortelijk gewicht (σ) van totaal bloed en plasma werd bepaald door met geijkte bolpipetten 1 ml bloed nauwkeurig te wegen, terwijl voor het bepalen van het soortelijk gewicht der erythrocyten een zweefmethode werd toegepast, waarbij een vloeistof werd gebruikt met een soortelijk gewicht, variërend van 1,095 — 1,110 bij een pH van 7,4 die tevens osmotisch en chemisch inert was en waarin de erythrocyten dus geen waarneembare veranderingen vertoonden.

Uiteindelijk werd hiervoor gevonden een vloeistof, bevattende pyelombrine 80%, hiervan 25 cc ad 100 cc aqua destillata, of urokon 50%, hiervan 33 cc ad 100 cc aqua destillata. Hiermee werd een soortelijk gewicht van 1,098 verkregen, van waaruit dit gevarieerd werd. De pH bleek ongeveer 6,8 en moest daarom steeds worden gecorrigeerd. Bij het bepalen der vriespuntsdaling werd voor het pyelombrine een waarde van $-0,590^{\circ}\text{C}$ gevonden.

Hoewel het niet gelukte, een vloeistof te verkrijgen, die geheel isotoon was, bleken de erythrocyten hierin toch de eerste uren zonder vormverandering (haematocriet) te blijven zweven, terwijl onze techniek slechts 5 minuten vereiste.

Methode:

Bij de bepalingen van het soortelijk gewicht der erythrocyten werd bij een reeks van bovengenoemde oplossingen van bekend soortelijk gewicht, een druppel verse erythrocyten gebracht, waarop na mengen, de vloeistof gedurende één minuut op 1000 toeren onder een hoek van 45 graden werd gecentrifugeerd. Na afloop werd het soortelijk gewicht van het buisje met de meest homogene erythrocytenverdeling als het juiste soortelijk gewicht der erythrocyten verondersteld.

De haematocrietwaarden werden in 8-voud bepaald (zie haematocrietbepaling). Met deze methode werden de volgende waarden gevonden bij bepalingen bij 11 gezonde personen: (zie tabel 6).

TABEL 6

No.	SG totaal bloed	SG plasma	SG erythrocyten	Ht	Volume <i>i</i>
1	1,061	1,023	1,109	0,46	0,018
2	1,064	1,025	1,104	0,51	0,016
3	1,063	1,028	1,104	0,475	0,015
4	1,064	1,027	1,103	0,50	0,013
5	1,064	1,026	1,105	0,50	0,020
6	1,060	1,028	1,094	0,50	0,015
7	1,0573	1,0283	1,0925	0,465	0,014
8	1,060	1,026	1,100	0,475	0,016
9	1,0613	1,0278	1,0992	0,490	0,021
10	1,0607	1,0283	1,0969	0,505	0,018
11	1,0591	1,0285	1,0964	0,465	0,015
Gemiddeld	1,0594	1,0269	1,1004	0,486	0,016
					$\pm 0,0026$

Wij hebben de waarde van $1,6\% \pm 0,26$ als gemiddelde van de intercellulaire plasmawaarden bij onze verdere correcties gebruikt, hoewel wij ons van de betrekkelijkheid hiervan bewust zijn. Deze waarde ligt iets lager dan de in de literatuur algemeen gevondene, wat ons in hoofdzaak het gevolg toeschijnt van onze centrifugecapaciteit. (8100 g).

L. DE GLUCOSE BEPALINGEN

Deze werden met de methode van HAGEDORN-JENSEN in duplo verricht. De nauwkeurigheid der bepalingstechniek werd beoordeeld aan een 22-voudige bepaling van een glucoseoplossing van 97,6 mg%. De spreiding der enkelvoudige waarnemingen bedroeg hierbij 3,6 mg%, de spreiding van het gemiddelde was 0,77 mg%.

M. DE STATISTISCHE BEWERKINGEN

De statistische bewerkingen van ons materiaal werden verricht door de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum te Amsterdam, — Hoofd: Prof. Dr D. VAN DANTZIG, in de persoon van Dr CONSTANCE VAN EEDEN, in samenwerking met Dr C. G. G. VAN HERK. Hierbij werd gebruik gemaakt van de volgende methoden:

1) Methode der m rangschikkingen. Met deze methode werd het verschil tussen de uitkomsten op verschillende tijdstippen bij eenzelfde groep onderzocht (m = aantal patiënten) (152).

2) De 2 steekproeven toets van WILCOXON. Met deze toets werd de vergelijking der groepen onderling uitgevoerd (153).

3) De symmetrietoets van WILCOXON [153a]. Deze werd gebruikt bij tabel 7, om het verschil na te gaan tussen 0 en 3 uur, 0 en 26 uur, en 3 en 6 uur. De overschrijdskans is aangegeven met P .

4) De methode der 2×2 — tabel werd toegepast op de tabellen 29, 30, 31 en 34. (153b).

De conclusies op grond van deze bewerkingen worden in het volgende met (M.C.) aangegeven.

Latere bewerkingen werden verricht door Dr J. DE WAEL, biochemische afdeling, Stads- en Academisch Ziekenhuis, Utrecht.

Hierbij werd gebruik gemaakt van de t -toets van STUDENT (154).

De door Dr J. DE WAEL verrichte berekeningen werden met het teken * aangeduid.

HOOFDSTUK IV

*Give me four arbitrary constants, and I will create an elephant;
give me five, and he will wave his trunk.*

E. PONDER, protoplasmatologia X.1955.73.

RESULTATEN ¹

I. WAARNEMINGEN BIJ NORMALEN

De kalium- en natriumuitwisseling tussen plasma en erythrocyten in vitro, en de hieraan ten grondslag liggende glycolyse, werden gedetailleerd nagegaan bij 10 normale personen op de wijze, als in

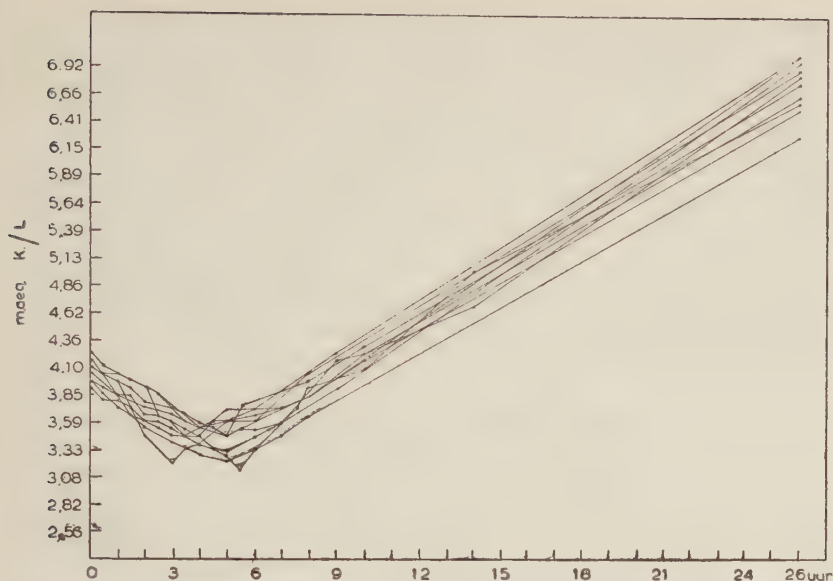
TABEL 7

Veranderingen in kaliümgehalte van plasma (m aeq/l) van 10 normalen gedurende 26 uur incubatie.

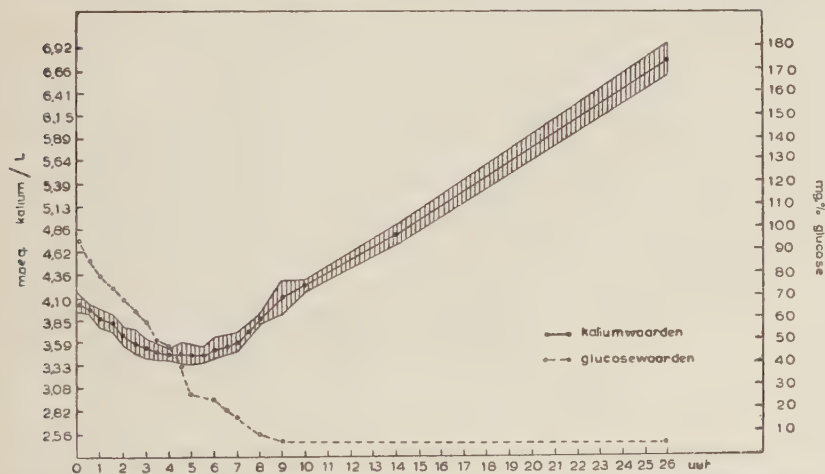
nr →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	gemiddeld
tijd ↓ uur											²
0	4,10	4,12	4,10	4,10	3,97	3,90	3,97	4,04	4,23	4,23	4,08 ± 0,048
$\frac{1}{2}$	4,04	4,04	4,04	4,04	3,91	3,76	3,85	—	4,10	4,10	3,99
1	3,97	3,85	3,97	4,04	3,85	3,76	3,72	3,85	4,04	—	3,89
$1\frac{1}{2}$	3,91	3,85	3,72	3,97	3,65	3,72	—	—	—	3,97	3,83
2	3,76	3,65	3,56	3,91	3,56	3,46	3,53	3,72	3,91	—	3,68
$2\frac{1}{2}$	—	3,65	3,53	3,65	3,56	3,25	—	—	3,85	3,85	3,62
3	3,72	3,56	3,46	3,56	3,53	3,24	3,39	3,65	—	3,72	3,53 ± 0,056
$3\frac{1}{2}$	3,65	3,53	3,46	3,46	3,46	3,33	3,33	3,56	—	3,56	3,49
4	3,56	3,46	3,39	3,53	3,46	3,39	3,27	3,53	3,53	—	3,46
$4\frac{1}{2}$	3,53	3,33	3,33	—	3,56	—	—	3,56	—	—	3,47
5	3,46	3,27	3,33	3,56	3,72	3,56	3,20	3,56	3,46	3,46	3,47
$5\frac{1}{2}$	3,53	3,14	—	—	—	—	—	—	3,72	—	3,46
6	3,53	3,33	3,46	3,56	3,72	3,72	3,33	3,65	—	3,56	3,55 ± 0,056
$6\frac{1}{2}$	—	—	3,53	—	—	—	—	—	—	—	3,53
7	3,56	3,46	3,56	—	3,72	—	3,56	3,72	—	—	3,61
$7\frac{1}{2}$	—	—	3,72	—	—	—	—	—	—	—	3,72
8	—	3,65	3,91	4,04	3,85	—	—	3,85	3,97	3,85	3,87
9	4,12	—	—	—	—	4,23	3,91	—	—	—	4,10
10	4,23	—	4,10	—	—	—	—	4,12	4,29	4,23	4,21
14	4,68	—	5,00	—	—	—	—	—	—	—	4,84
26	6,86	6,28	6,60	6,92	6,92	7,05	7,00	6,54	6,79	6,66	6,77 ± 0,09
leeftijd jaren	20	20	20	21	20	20	21	20	21	20	
%k opname											
0-3 uur	9,4	13,8	15,6	12,5	11,3	16,9	14,5	9,5	—	12,1	13,4 ± 0,96

¹ Aanvullende klinische en biochemische gegevens worden groepsgewijs in Appendix I op blz. 121 vermeld.

² Tenzij anders vermeld, geven wij de spreiding van het gemiddelde (dus niet van de enkele waarneming).



Figuur 4. Veranderingen in kaliumgehalte van 10 normalen gedurende 26 uur incubatie.



Figuur 5. Veranderingen in kaliumgehalte en glucose (gemiddelde en spreiding) in plasma van 10 normalen.

hoofdstuk III beschreven. Hiernaast werden van 16 andere normale personen de kaliumopname en het glucoseverbruik gedurende de eerste 3 uur vastgesteld. Wanneer verschuivingen in het watergehalte van plasma en erythrocyten optraden, werden deze met de celwaterindex gecorrigeerd.

Bij de normalen werden bovenstaande bepalingen gedurende de

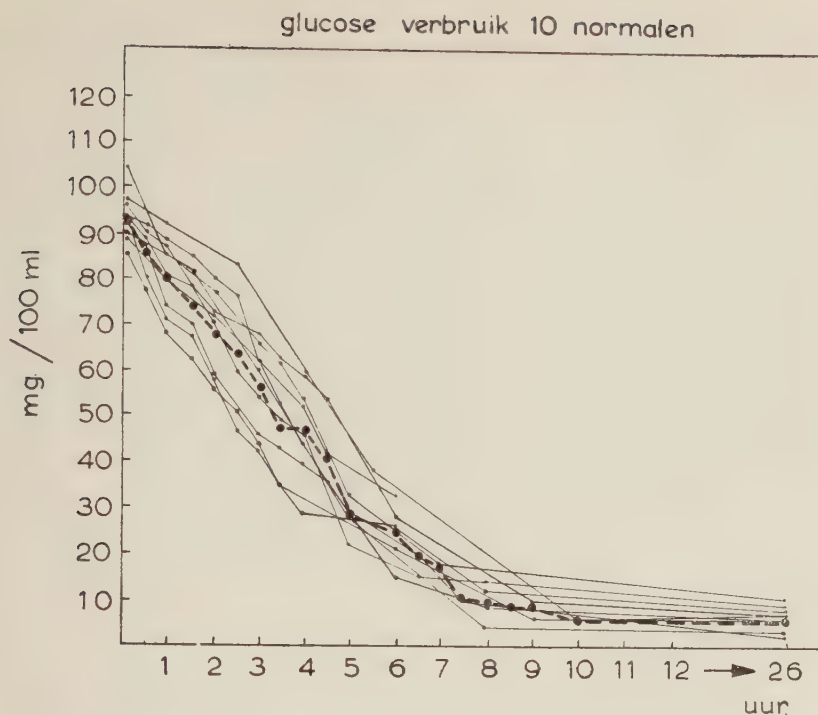
eerste 6 uur om de 30 minuten verricht, vervolgens met langere tussenpozen, tot in totaal gedurende 26 uur (dit laatste, daar in serie-experimenten 26 uur practischer bleek te zijn dan de geijkte 24 uur). De veranderingen van het kaliumgehalte in het plasma (tabel 7 en figuren 4 en 5) uitten zich aanvankelijk in een vrij constante daling, die na 3 uur gemiddeld $13,4\% \pm 0,96$ van de gemiddelde beginwaarde bedroeg, waarna, na een evenwichtsperiode van wederom ongeveer 3 uur, er een constante stijging in het kaliumgehalte van het plasma werd waargenomen. Na 26 uur bleek het kaliumgehalte gemiddeld 66% boven de beginwaarde te liggen.

TABEL 8

Veranderingen in glucosegehalte (mg/100 ml) van het plasma van 10 normalen gedurende 26 uur incubatie.

aantal →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	gemiddeld	aantal bepalingen	mg/glucose verbr./uur
tijd ↓ uur													
0	96	94	92	85	94	94	104	89	97	90	93,5	10	
$\frac{1}{2}$	90	89	87	77	91	80	—	—	—	—	85,5	6	16,0
1	87	81	74	68	88	71	85	80	92	—	80,7	9	12,8
$1\frac{1}{2}$	78	78	70	62	85	67	—	—	—	81	74,4	7	12,7
2	73	70	60	56	80	58	77	72	—	—	68,2	8	12,6
$2\frac{1}{2}$	—	59,5	—	51	76	47	—	—	83	—	63,4	5	12,0
3	68	54	46	44	62	43	66	62	—	60	56,1	8	12,5
$3\frac{1}{2}$	63	49	43	35	53	35	62	—	—	—	48,5	7	12,8
4	59	46	40	29	44	—	54	52	60	—	48,0	8	11,4
$4\frac{1}{2}$	54	—	35	—	35	—	—	42	—	—	41,0	4	11,7
5	—	22	29,1	—	—	—	33	—	—	28	28,1	4	13,1
$5\frac{1}{2}$	—	—	—	—	—	—	—	—	38	—	38,0	1	
6	28	—	—	26	16	21	—	33	—	—	24,8	5	11,4
$6\frac{1}{2}$	—	—	20	—	—	—	—	—	—	—	20	1	
7	—	15	—	—	—	—	19	—	—	—	17	2	
$7\frac{1}{2}$	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	10	1	
8	—	14	—	12	9	—	—	—	—	4	9,7	4	10,5
9	10	—	—	—	—	7	—	—	—	—	8,5	2	
10	—	—	—	—	—	—	—	—	6	—	6	1	
14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
26	7	9	2	8	6	6	10	—	7	3	6,4	9	

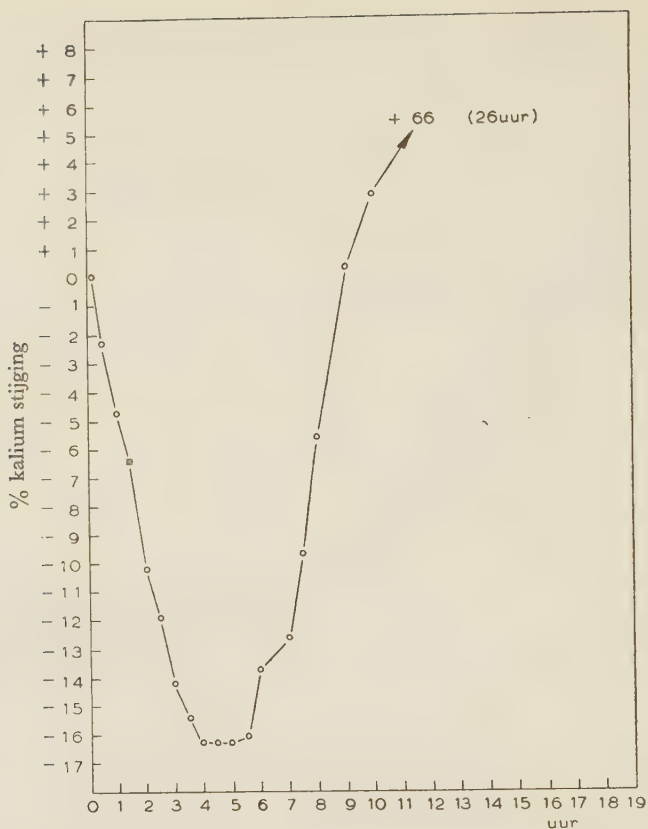
Het glucosegehalte van het plasma (tabel 8 en figuur 6) bleek in de eerste 3 uur met 40% te zijn gedaald, in de tweede 3 uur met 33,5%, en vertoonde een vrijwel constante daling van gemiddeld 12,3 mg



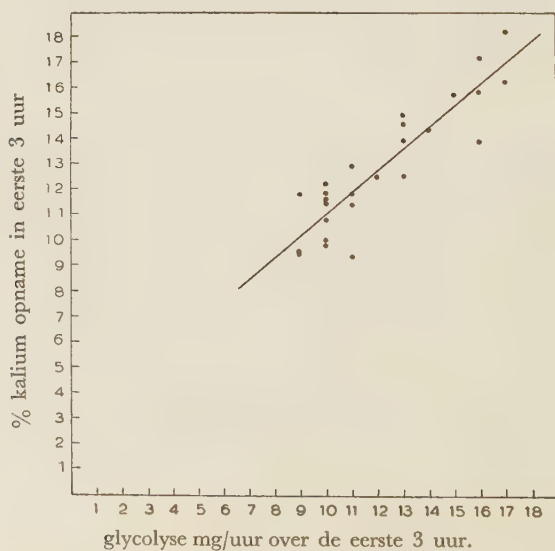
Figuur 6. Veranderingen in glucose concentraties van plasma tijdens 26 uur incubatie. (10 normalen).

per 100 ml bloed per uur, berekend over de eerste 6 uur, in tegenstelling tot de kaliumveranderingen, die na 3 uur een minder steile daling vertoonden. De verandering van het kaliumgehalte van het plasma tijdens de incubatie werd ten opzichte van de beginwaarde procentueel berekend (figuur 7), waarbij de daling in negatieve, de stijging in positieve zin werd uitgedrukt.

Hieruit blijkt duidelijk de vrijwel lineaire opname van het kalium door de erythrocyten gedurende de eerste uren. Ook werd de mogelijke correlatie nagegaan tussen het glucoseverbruik en de kaliumopname in de eerste 3 uur bij 26 normale personen tussen 19 en 49 jaar (figuur 8). Deze bleek duidelijk aanwezig. De correlatie coëfficiënt * bedroeg hierbij $+0,81$, de regressiecoëfficiënt $0,85$, het snijpunt der regressielijn $+2,5$ eenheden der y-as. De gemiddelde procentuele 3 uren opname van kalium * was $12,7 \pm 0,25$ met als standaard deviatie der enkelvoudige waarneming $1,27$. Met de t-toets (154) beoordeeld, * betekent dit dat enkelvoudige waarnemingen



Figuur 7. Procentuele verandering van de gemiddelde kaliumconcentratie in het plasma (10 normalen).



Figuur 8. Correlatie glucoseverbruik/kaliumopname in plasma (26 normalen).

vanaf 15,19% als ondergrens en 10,21% als bovengrens significant verschillen ($P = 0,05$) van de 26 normalen ($12,7\% \pm 2,49$).

De curve, verkregen uit het gemiddelde der kaliumconcentraties van het plasma der normale proefpersonen gedurende 26 uur-incubatie, bleek dus in 3 gedeelten te kunnen worden gesplitst. Ook bij ziekten bleek deze curve steeds terug te vinden te zijn. Daar meestal na 3 en 6 uur de duidelijkste veranderingen zichtbaar werden, werden bij alle verdere onderzoeken ook steeds op de tijdstippen 0-, 3-, 6- en 26 uur bepalingen verricht. De daling van het kaliumgehalte in het plasma na 3 uur van 13,4% bleek significant te zijn ($P = 0,004$), evenals de stijging na 26 uur ($P = 0,004$). Tussen 3 en 6 uur was geen verschil aantoonbaar ($P = 0,95$) (M.C). Daar bij de proefopstelling gebruik was gemaakt van een afgesloten ruimte, waarin de totale hoeveelheid electrolyten en water gelijk bleef, was het te verwachten, dat de schommelingen van het kaliumgehalte in het plasma de natriumconcentraties daarin zouden beïnvloeden. Dit bleek echter alleen na 26 uur aantoonbaar te zijn (tabel 9).

TABEL 9
Veranderingen in natriumconcentraties in plasma (maeq/l) tijdens 26 uur incubatie (10 normalen).

aantal →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	gemiddeld
tijd ↓ uur											
0	144,3	147,8	141,3	147,8	144,3	141,3	141,3	142,1	143,5	144,3	143,9 ± 0,78
$\frac{1}{2}$	144,3	147,1	142,6	147,8	144,3	141,3	—	—	143,5	144,3	143,9
1	144,3	147,1	144,3	147,8	143,5	141,3	140,9	141,7	143,0	—	143,9
$1\frac{1}{2}$	144,3	146,1	146,1	147,4	142,6	140,9	—	—	—	144,3	144,3
2	144,3	145,1	147,8	147,4	142,1	140,9	140,4	141,3	143,0	—	143,5
$2\frac{1}{2}$	—	145,1	149,1	147,0	142,1	140,9	—	—	142,6	144,3	144,3
3	144,3	144,8	150,4	147,0	141,7	140,9	139,6	141,3	—	144,3	143,9 ± 0,97
$3\frac{1}{2}$	144,3	143,9	150,4	147,0	141,7	140,4	—	141,3	—	144,3	143,5
4	144,8	143,9	149,6	147,0	141,3	140,0	—	141,3	142,6	—	143,5
$4\frac{1}{2}$	145,1	143,5	149,6	—	140,9	—	—	140,9	—	—	143,9
5	145,1	143,5	148,7	146,4	140,0	139,1	139,1	140,9	142,6	144,3	143,0
$5\frac{1}{2}$	145,7	143,5	—	—	—	—	—	—	142,6	—	143,9
6	146,1	143,5	147,8	146,4	138,3	138,3	138,7	140,9	—	144,3	142,6 ± 1,4
$6\frac{1}{2}$	—	—	147,0	—	—	—	—	—	—	—	147,0
7	146,1	142,6	147,0	—	138,1	—	—	140,4	—	—	142,1
$7\frac{1}{2}$	—	—	146,1	—	—	—	—	—	—	—	146,1
8	—	141,7	145,7	145,7	136,9	—	—	139,1	141,7	142,6	141,7
9	145,1	—	—	—	—	136,9	138,3	—	—	—	140,0
10	145,1	—	144,3	—	—	—	—	139,1	140,9	141,3	142,1
14	143,5	—	140,4	—	—	—	—	—	—	—	141,7
26	130,4	134,8	128,8	136,5	127,0	126,1	136,9	130,9	128,7	128,8	130,9 ± 1,2

De beginwaarde der gemiddelde natriumconcentraties in het plasma bedroeg $143,9 \pm 0,78$ m aeq/l., na 3 uur $143,9 \pm 0,97$, na 6 uur $142,6 \pm 1,4$ en na 26 uur $130,9 \pm 1,2$ m aeq/l plasma.

Wel kwamen de veranderingen in de natriumconcentraties duidelijk naar voren in hun concentraties in de erythrocyten (tabel 10).

TABEL 10

Veranderingen in natriumconcentraties in erythrocyten (m aeq/l) tijdens 26 uur incubatie (9 normalen).

aantal →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	gemiddeld
tijd ↓ uur										
0	16,1	14,3	21,3	17,4	15,8	15,5	18,7	17,9	11,3	$16,48 \pm 0,94$
3	17,4	25,7	17,0	19,8	18,6	18,7	19,3	21,0	14,0	$19,06 \pm 1,05$
6	18,3	27,4	16,1	21,1	28,2	21,8	22,0	25,4	15,8	$21,79 \pm 1,52$
26	46,0	38,0	47,7	38,6	37,7	46,0	35,1	34,8	35,9	$39,98 \pm 1,70$

Het gemiddelde natriumgehalte bedroeg $16,5 \pm 0,94$ m aeq/l cellen, na 3 uur $19,1 \pm 1,05$, na 6 uur $21,8 \pm 1,52$ en na 26 uur $40,0 \pm 1,70$ terwijl de kaliumconcentratie van gemiddeld $93,1 \pm 1,41$ m aeq/l cellen in de rode cellen daarentegen niet meetbaar veranderde (tabel 11).

TABEL 11

Veranderingen in kaliumconcentraties in erythrocyten (m aeq/l) tijdens 26 uur incubatie (9 normalen).

aantal →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	gemiddeld
tijd ↓ uur										
0	99,5	93,3	91,4	92,6	93,1	98,1	85,2	94,7	89,9	$93,09 \pm 1,41$
3	99,9	94,0	92,0	93,1	93,6	98,5	85,7	95,3	90,3	$93,60 \pm 1,41$
6	100,1	94,3	92,4	93,2	93,9	98,7	85,8	95,2	90,5	$93,79 \pm 1,41$
26	97,5	91,9	89,6	90,3	90,1	95,8	82,2	92,8	85,7	$90,66 \pm 1,54$

Het watergehalte der erythrocyten bleek tijdens de incubatie merkbaar te stijgen, wat duidelijk tot uiting kwam in de haematocrietwaarden. Deze bedroegen bij het begin der incubatie gemiddeld 49,4%, na 3 uur 50,2%, na 6 uur 50,9%, en na 26 uur 53,9%. Deze stijging met 1,6-, 2,9- en 8,4% van de beginwaarde vond geleidelijk plaats. Slechts in één geval werd een daling na 3 uur gevonden. Om na te gaan of de oorzaak der waterverplaatsing naar de erythrocyten mogelijk gelegen was in verschuivingen in de electrolyten-concentraties, werden de kalium-en natriumconcen-

traties der rode cellen in m aeq/l celwater berekend. Het watergehalte der erythrocyten bedroeg gemiddeld 717 g per l, van het plasma 923 g/l. De som van de kalium- en natriumconcentraties per liter celwater steeg van 153 m aeq/l aan het begin der incubatie tot 182 m aeq/l na 26 uur, wat een totale toename van 29 m aeq aan kationen betekent (18,9%), tegen 6,3% toename aan celwater (4,5% toename van het volume). Een mogelijk verband tussen de toename aan kationen en celwater kon bij gebrek aan verdere gegevens van anionen-verschuivingen niet worden beoordeeld.

Door ROEGHOLT (17) werd reeds gewezen op het verband tussen de concentratie van natrium in het plasma en van kalium in de erythrocyten. De verhouding hiertussen bleek bij onze normalen 1,53 te bedragen, wat goed overeenstemt met een waarde van 1,47 bij ROEGHOLT.

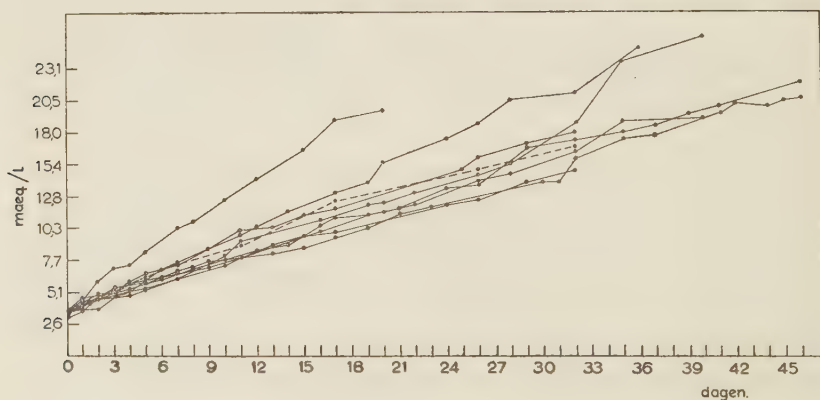
Van meer belang leek ons echter een mogelijk verband tussen de kaliumopname in de erythrocyten en de gelijktijdig hierbij optredende natriumveranderingen.

Gezien de literatuur-gegevens werd een gelijktijdige uitdrijving van het intracellulaire natrium verwacht. Dit werd slechts in één geval gevonden, waarbij in 3 uur 20% van het intracellulaire natrium werd uitgedreven tegen 15,6% kaliumopname vanuit het plasma. Er werd hierbij 4,3 m aeq natrium per liter cellen uitgewisseld tegen 0,6 m aeq kalium, dus ruim 7 maal zoveel.

Door de gelijktijdige waternverplaatsing daalde de haematocrietwaarde met 1,7%. In alle andere gevallen bleek in de eerste 3 uur tegelijk met de kaliumopname een natriumverplaatsing naar de rode cellen op te treden, variërend van 3,2 tot 80% van de beginwaarde. Er kon dan ook geen enkel verband tussen de kalium- en natriumuitwisseling worden gevonden. Bij verschillende ziekten kon de natriumuitdrijving soms wel worden waargenomen, echter zonder enige regelmaat.

Zoals reeds gezegd, werd tijdens de incubatie der erythrocyten in hun eigen plasma, na een opnameperiode van kalium en natrium van ongeveer 3 uur, voor het kalium een evenwichtsperiode bereikt. In tegenstelling hiermee werd het natrium gelijkmatig opgenomen, waarbij de concentratieverschillen in en buiten de cellen waarschijnlijk de grootste rol speelden. Het was uit onze experimenten onmogelijk, hierbij actieve en passieve factoren te scheiden. Gemiddeld werd 16,4% van de intracellulaire waarde aan natrium per uur opgenomen.

Over de oorzaak van de tijdelijke onmiddellijk na bloedafname optredende kaliumopname tegen een aanzienlijke concentratie in, hebben wij ons geen duidelijke voorstelling kunnen maken. Zoals reeds in de inleiding gezegd, wordt dit probleem in de literatuur nauwelijks aangeroerd. Toch treedt dit, blijkbaar steeds aan de koolhydraatstofwisseling verbonden, verschijnsel universeel op en is o.a. bij de spierstofwisseling uitvoerig bestudeerd. Vast staat, dat voor glucoseverbruik kalium noodzakelijk is. Kort geleden werd medegedeeld [102], dat ook energietoevoer via adenosine kaliumopname ten gevolge heeft, zodat waarschijnlijk ook hierbij het kaliumion betrokken is. Uit het verloop der curve in figuur 5 bleek, dat de kaliumopname geleidelijk aan plaats maakte voor uittreding, wat samenhang met het verbruikt raken van het plasma-glucose. Toevoegen van glucose na 6 uur, gaf hierop een hernieuwde daling van kalium te zien, die echter korter en minder intensief was en, bij herhaling der glucose-toevoeging, uiteindelijk niet meer plaats vond [155]. Behalve van de glycolyse is dus de kaliumopname van andere factoren afhankelijk, zoals wij bij verschillende ziekten konden waarnemen. De uittreding van het kalium uit de erythrocyten bleek volgens de curve in figuur 5 vrij constant te verlopen, en werd in hoofdzaak beheerst door het concentratieverschil aan weerszijden der erythrocytenmembraan, zoals bleek bij het nagaan der concentraties van kalium en natrium van gedurende enkele maanden bij 4°C bewaard bloed, dat opgevangen was in een citraat-glucose-mengsel, zoals dat bij de bloedtransfusiediensten wordt gebruikt (figuur 9).



Figuur 9. Veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l) tijdens bij 4°C bewaren van „donor”bloed (8 personen).

Hierbij bleek de eerste 2-3 weken het kalium met vrijwel constante snelheid uit de erythrocyten te treden, wat vervolgens geleidelijk aan verminderde. Men dient bij het toedienen van bloed, dat op deze wijze wordt geconserveerd, ter dege rekening te houden met deze snel toenemende kaliumconcentraties in het plasma.

Dat naast het verschil in electrolyten-concentraties aan weerszijden der erythrocytenmembraan ook de toestand van deze membraan van belang is, blijkt uit het verschil in – passieve – uittreding van kalium uit de erythrocyten bij verschillende ziekten, evenals uit het verschil in opname van natrium uit het plasma hierbij. Zo vonden wij tussen 6 en 26 uur bij de normalen een kaliumuittreding van 91,5%, tegen 140,7% bij de haemolytische anaemiën en 15,7% bij een groep van onregelde diabetespatienten (tabel 26).

Een duidelijk verband met de natriumuitwisseling werd ook nu niet gevonden.

Samenvatting

Uit experimenten met heparinebloed van normale personen, dat bij 37°C werd geïncubeerd, werden de waarnemingen uit de literatuur bevestigd wat betreft de kaliumopname en het glucoseverbruik. De door ons gebruikte proefopstelling was echter geheel anaëroob, wat het aërobe glucoseverbruik door leucocyten en thrombocyten reduceerde. Mogelijk hierdoor was de gemiddelde glycolyse van 12,9 mg/100 ml bloed iets lager dan die, welke in de literatuur vermeld wordt.

Er bleek een duidelijk correlatie te bestaan tussen het glucoseverbruik en de kaliumopname in de eerste 3 uur.

Bij het volgen der electrolytenverschuivingen tussen plasma en erythrocyten gedurende 26 uur incubatie bij 37°C, bleken de hieruit verkregen kaliumcurven steeds uit 3 gedeelten te bestaan: een verschuiving van het kalium uit het plasma naar de erythrocyten gedurende ongeveer 3 uur van gemiddeld 13,4%, een evenwichtsperiode eveneens van ongeveer 3 uur, tenslotte gevolgd door een uittreding van het intracellulaire kalium naar het omgevende medium (plasma) gedurende de laatste 20 uur tot 91% boven de laagste plasmaconcentraties. Deze uittreding werd als een maat van membraanpermeabiliteit en Donnan factoren opgevat evenals de gelijktijdig optredende natriumopname. Daar deze 2 factoren in onze proefopstelling echter niet te scheiden waren, zullen wij het totale effect hiervan voortaan als passieve uitwisselings snelheid

voor deze electrolyten omschrijven. De opname was bij benadering rechtlijnig. In deze gehele periode werd het natrium vrijwel constant met gemiddeld 16,4% per uur door de erythrocyten opgenomen. Een constante uitdrijving van natrium tijdens de glycolyse, zoals vooral door MAIZELS geponeerd [95, 101], kon niet worden gevonden.

Tijdens de 26-urige incubatie werden 29 m aeq kationen per kg celwater in de erythrocyten opgenomen, waarmee de haematocrietwaarde met 4,5% steeg. Bij lang bewaren van bloed bij 4°C in een citraat-glucosemengsel bleek het kalium in de eerste 2-3 weken met constante snelheid uit de erythrocyten te treden, welke snelheid hierop langzamerhand verminderde. Een voor transfusiedoeleinden gevaarlijke kaliumconcentratie werd reeds na 1 week bereikt. Vergelijkende experimenten met bloed, verkregen bij allerlei ziekten, toonden aan, dat ook de functie der erythrocyten-membraan een grote rol speelde. Dit zal bij de bespreking van deze ziekten nog naar voren komen. Er bleek ook hierbij geen verband te bestaan met de gelijktijdige opname van natrium.

II. ONDERZOEK BIJ PATIENTEN MET VERSCHILLENDE ZIEKTETOESTANDEN.

Hieronder vielen de volgende groepen: diabetes mellitus, levercirrhose, anaemiën, ziekten met corticosteroïdentherapie, M. ADDISON, hypokaliaemie, periodieke paralyse, hepatitis infectiosa, hyperthyreose, patienten met verhoogde insulinegevoeligheid, asthma bronchiale, nierziekten, maligne tumoren en verschillende andere endocrine afwijkingen.

1. *Diabetes mellitus*

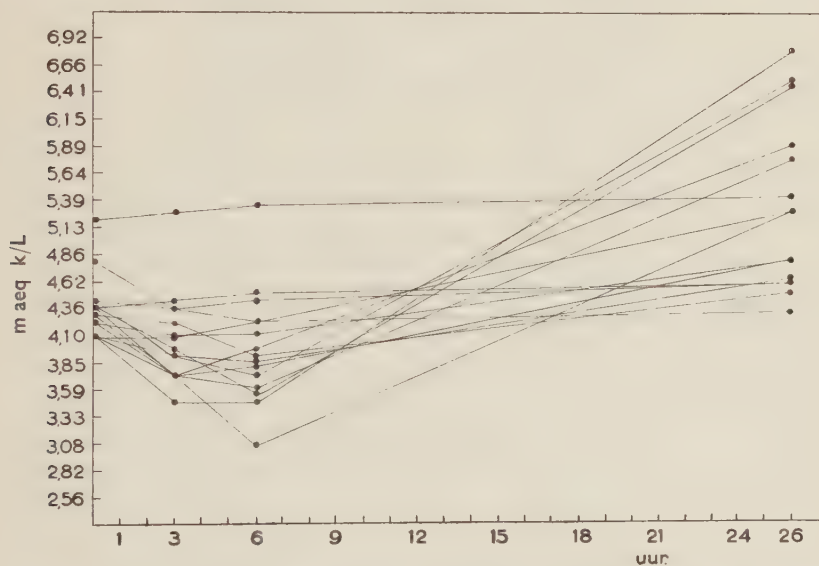
Deze groep bestond uit 15 patienten, in leeftijd variërend van 20 tot 60 jaar, gemiddelde leeftijd 31 jaar. 8 Patienten werden met insuline behandeld. Een samenhang met de leeftijd kon, met de KENDALL's-rangcorrelatie methode onderzocht, niet worden gevonden. Uit tabel 12 en figuur 10 blijkt, dat bij sommige patienten de erythrocyten zeer weinig kalium opnamen en afgaven (groep A), bij anderen een normale opname-activiteit vertoonden (groep B).

Tot groep A behoorden alle patiënten, die met insuline werden behandeld, soms in vrij hoge dosering. Zo was patiënte no. 12 met 56 E protamine-zink naast 46-0-48 E gewone insuline, redelijk geregeld. De procentuele 3 uursopname van kalium leek ons een

TABEL 12

Veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l) tijdens 26 uur incubatie (15 diabetes patiënten).

aantal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	A ge- midd.	B ge- midd.	Totaal
uren 0	4,82	4,10	4,10	4,40	4,23	4,28	4,23	4,44	4,34	4,28	4,23	4,10	4,34	4,10	5,18	4,44	4,23	4,32
3	4,35	3,89	3,72	4,35	4,10	4,23	3,64	3,89	3,97	3,71	3,71	4,10	4,44	3,46	5,25	4,33	3,72	4,03
6	4,50	3,85	3,97	4,23	4,10	4,14	3,89	3,71	3,51	3,31	3,61	4,23	4,44	3,46	5,32	4,30	3,60	3,97
26	4,53	4,61	5,92	4,28	4,78	4,50	4,78	6,50	6,46	6,41	5,77	5,25	4,52	6,80	5,40	4,74	5,93	5,29
leeftijd jaren	20	60	22	21	21	58	19	29	29	41	20	24	21	40	46			
insuline	+	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+	—	+			
% k opname	9,3	4,7	9,4	1,4	3,0	1,5	13,6	11,6	8,8	13,4	12,1	0	0	15,6	0	2,5	12,1	6,7
groep	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A	A	B	A	A	B	



Figuur 10. Veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l) tijdens 26 uur incubatie (15 diabetes patiënten) .

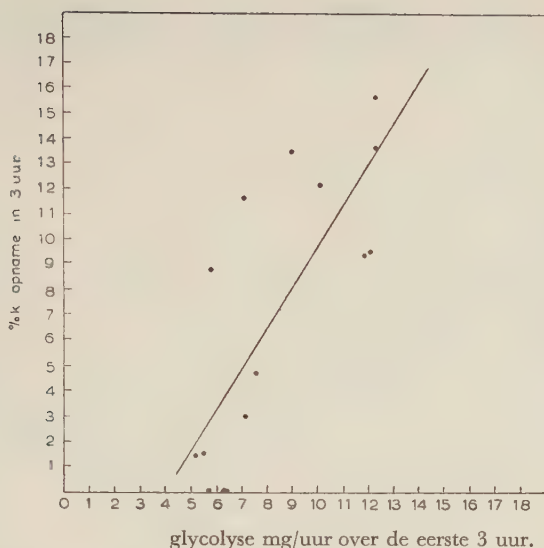
gevoeliger maatstaf voor de ernst der diabetes te zijn, dan de glucosurie, zoals uit tabel 13 op blz. 58 waarschijnlijk wordt.

Hierbij werden de klinische bevindingen met de procentuele kaliumopname in 3 uur vergeleken. In 3 gevallen werd in het geheel geen kalium opgenomen, de glycolyse door de erythrocyten was in deze gevallen duidelijk verlaagd. Een zo fraaie correlatie

TABEL 13

Klinische gegevens van 15 patiënten met diabetes mellitus. Vergelijking met procentuele kaliunopname en glycolyse van hun erythrocyten tijdens 26 uur incubatie.

No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
bloedsuiker mg %	129	301	101	265	230	225	113	135	193	94	101	199	223	152	246
glucosurie gr/24u.	72	27	6	132	66	44	—	12	69	—	7	70	127	—	76
aceton	—	±	—	+	±	+	—	—	—	—	—	+	+	—	+
E	12-0-12	20-0-12	—	24 NPH	16-16-16	8-0-8	—	—	—	—	—	56 PZI	40-0-0	—	24 PZI
insuline				0-0-16								44-0-48	lente		28-0-16
% k opname 3 u.	9,3	4,7	9,4	1,4	3,0	1,5	13,6	11,6	8,8	13,4	12,1	0,0	0,0	15,6	0,0
glycolyse mg %/u.	11,8	7,6	12,1	5,2	7,2	5,4	12,3	7,1	5,8	9,0	10,1	6,3	5,6	12,3	6,3
leeftijd	20	60	22	21	21	58	19	29	29	41	20	24	21	40	46
duur der	enkele	enkele	enkele	4	5	15	3	4	5	5	1½	8	3	2	1½
behandeling	dagen	weken	weken	weken	mnd	jaar	mnd	mnd	mnd	jaar	jaar	jaar	mnd	jaar	jaar
of bekendheid															

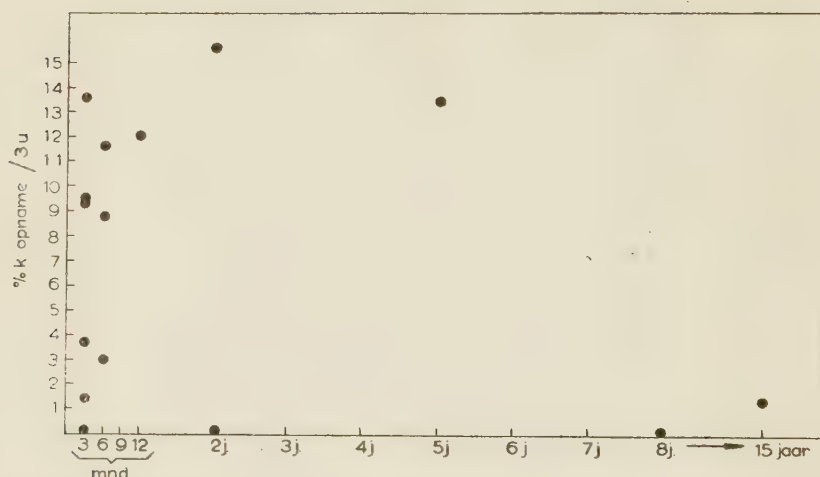


Figuur 11. *Correlatie glucoseverbruik/kaliumopname in plasma (15 diabetes patiënten).*

als bij de normalen werd gezien, werd echter niet gevonden (figuur 11). De correlatie coëfficiënt was $+0,595$, de regressie coëfficiënt $1,595$, het snijpunt met de hoogte der y as -623 .*

Het gemiddelde kaliumgehalte in het plasma der 15 diabetespatiënten bleek op de uren 0, 3 en 6 significant hoger te liggen dan bij de normalen ($P < 0,001$),* terwijl na 26 uur de normale kaliumconcentratie aanmerkelijk hoger lag ($P < 0,0001$).^{*} De gemiddelde kaliumconcentratie der gehele groep na 3 en 6 uur bleek niet significant te verschillen van de beginwaarde, wat nog veel duidelijker was bij groep A.^{*} Hiertegenover was de curvedaling van groep B vrijwel met de normale te vergelijken, behalve de 26-uurswaarde, die lager lag dan bij de normalen. Het duidelijkst kwam dit verschillende gedrag tussen de groepen met en zonder insuline-therapie tot uiting in de procentuele opname,^{*} die na 3 uur voor groep A en B resp. 2, 5 en 12,1% bedroeg, na 6 uur 2, 5 en 15% en na 26 uur 5,1 en 28,4%. Ook de stijging tussen 6 en 26 uur was bij de diabetesgroep met insuline zeer veel kleiner, resp. 8,9 tegen 39,2%. Het is opmerkelijk, dat ook een klinisch voldoende insuline-therapie, niet tot normalisering der diabetescurven leidde, hoewel hogere doseringen de slechte opname leken te verbeteren (zie tabel 14, pag. 65). Een mogelijke invloed van de duur der diabetes (bv. antilichamen)

kon uit dit kleine aantal niet worden opgemerkt, daar vooral langdurig bestaande diabetes te weinig in de groep voorkwam (fig. 12).



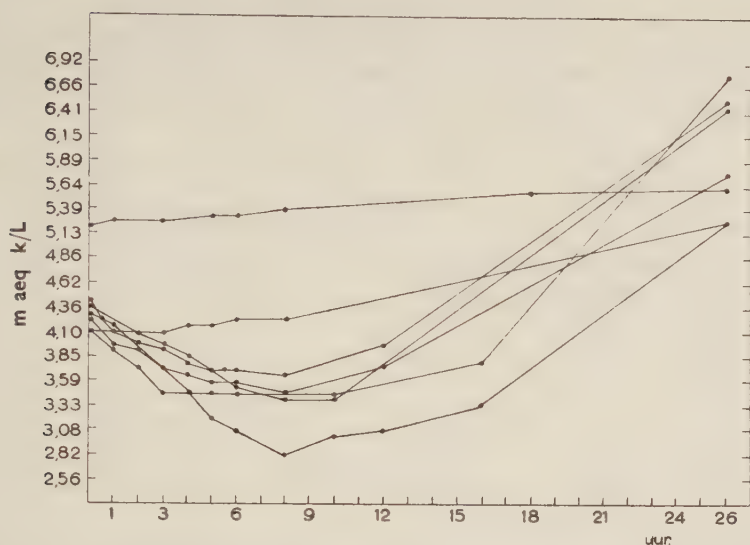
Figuur 12. Invloed van duur van de diabetes op procentuele kaliumopname der erythrocyten tijdens 3 uur incubatie.

De natriumwaarden in het plasma vertoonden geen verschil met die bij normalen en bedroegen gemiddeld op de tijden 0-, 3-, 6- en 26 uur resp. 143,0-, 143,9-, 142,4- en 130,9 m aeq/l. Ook de intracellulaire kaliumconcentraties waren normaal, gemiddeld 92,6 m aeq/l. De groepen A en B verschilden hierin niet significant.* Daarentegen bestond er een aanwijzing, dat het intracellulaire natriumgehalte bij groep A lager lag dan bij groep B, nl. 15,7 tegen 19,2 m aeq/l.* Een duidelijke correlatie tussen glycolyse-activiteit en concentraties aan intracellulair kalium of natrium kon evenmin worden vastgesteld.

Bij het beschouwen der individuele gevallen werden de electrolyt-verschuivingen in het bloed van enkele diabetespatiënten ook op andere dan bovengenoemde tijden nagegaan (figuur 13).

Uit deze figuur bleek, dat bij de erythrocyten van de diabetespatiënten met een goede kaliumopname (groep B), deze na 3 en zelfs na 6 uur bleef voortgaan zodat de evenwichtsperiode veel later werd bereikt dan bij normalen. Hoewel niet alle patiënten van

groep B zo gedetailleerd werden nagegaan, lijkt het niet gewaagd hierbij eenzelfde verloop te veronderstellen.



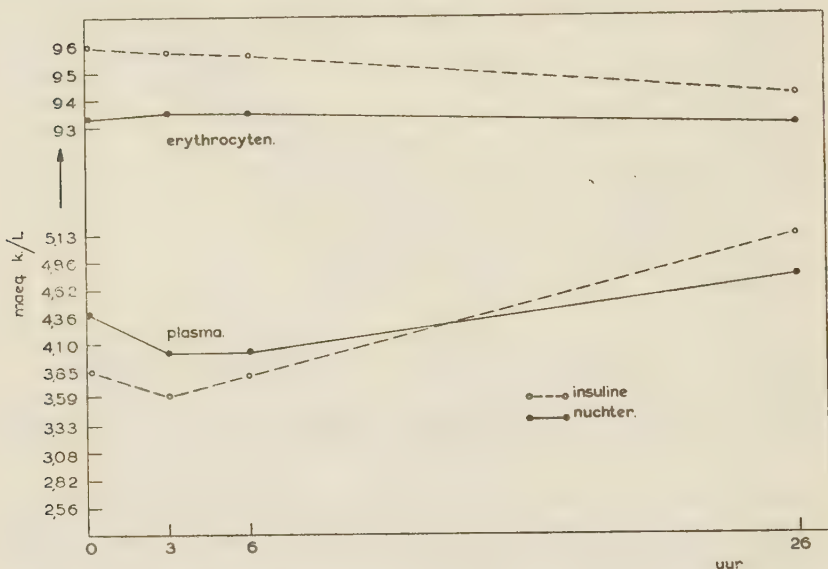
Figuur 13. Veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l) tijdens 26 uur incubatie (7 diabetes patiënten).

Het bleek reeds, dat de erythrocyten van de diabetespatiënten, waarbij insulinetherapie noodzakelijk was, een slechte opname van kalium vertoonden, ook bij klinisch goede regeling der diabetes. Ook de uittreding van kalium volgend op de opname-periode, verliep veel trager dan bij de normalen. In tegenstelling hiermee bleek de kaliumopname bij de andere groep veel langer dan normaal te verlopen, zodat de grootste procentuele kaliumopname soms die der normale waarden overtrof. Men zou hier van een verlengde en versterkte kaliumopname kunnen spreken.

Daar het ons interesseerde of het verloop der diabetische kaliumcurven door extra insulinetoeediening kon worden beïnvloed, werd bij 8 patiënten met diabetes 0,1 E insuline/kg ideaal lichaamsgewicht *i.v.* toegediend, onmiddellijk na afname van bloed voor de „nuchtere” curve. 30 Minuten na de insulinetoeediening werd opnieuw bloed afgenomen ter analyse. De twee zo verkregen curven werden met elkaar vergeleken (figuur 14).

De gemiddelde 0-, 3-, 6- en 26 uurswaarden voor kalium van het plasma der nuchtere patiënten bedroeg 4,43-, 4,05-, 4,05- en 4,73 m aeq/l, na insuline 3,85-, 3,60-, 3,79- en 5,11. De daling van 4,43

tot 3,85 is significant ($P = 0,01$), evenals die van 4,05 tot 3,60 ($P = 0,02$). De procentuele kaliumdaling was nuchter 8,7%, na insuline 6,6%, wat onderling niet significant verschilde.* Echter veranderde de curve als geheel duidelijk. De kaliumuittreding trad na insuline veel sneller op, zodat de indruk werd gewekt, alsof de opnamecapaciteit der erythrocyten na de insulinetoediening



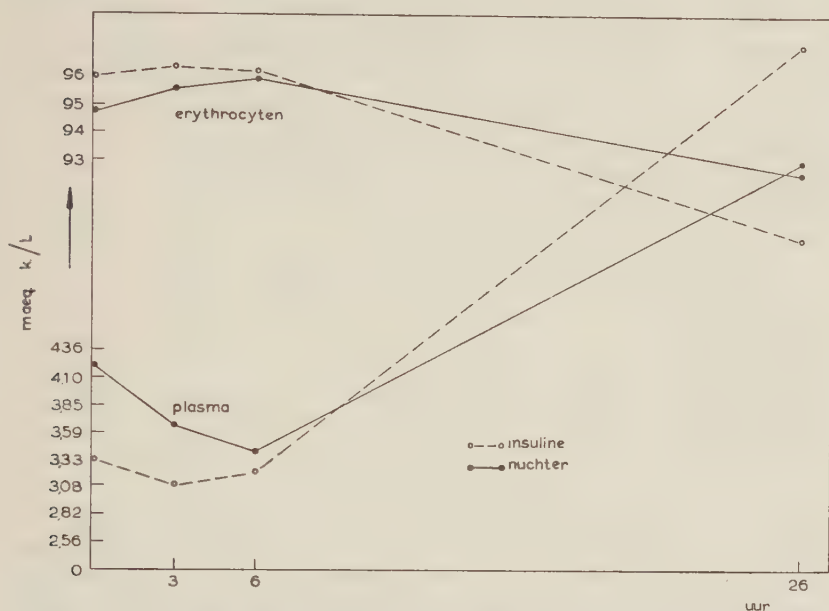
Figuur 14. Veranderingen in gemiddelde kaliumconcentraties in plasma en erythrocyten voor en na i.v. insuline toediening (8 diabetes patiënten).

was verminderd, alsof er een verzadiging aan kalium door de rode cellen had plaats gevonden. Deze indruk werd nog versterkt door het feit, dat het kaliumgehalte der erythrocyten na insulinetoediening significant was gestegen van 93,3 tot 96,0 maeq/l. Er kon geen invloed der insulinetoediening op het natriumgehalte van plasma of erythrocyten worden vastgesteld. Ter vergelijking werd bij 9 personen zonder verschijnselen van diabetes eveneens bovengenoemd insuline-effect nagegaan. De gemiddelde kaliumwaarden in het plasma op de tijdstippen 0-, 3-, 6- en 26 uur bedroegen 4,23-, 3,62-, 3,40- en 6,15 maeq/l vóór, en 3,31-, 3,07-, 3,19- en 7,24 maeq/l ná de insuline toediening (figuur 15).

De kaliumdaling na insuline van 4,23–3,31 maeq/l was sterk significant ($P = 0,01$), terwijl de procentuele kaliumdaling na

3 uur van 14,4 tot 7,4 daalde, wat eveneens duidelijk significant bleek ($P = 0,006$).*

Een significante toename in het kaliumgehalte van de erythrocyten kon echter niet worden vastgesteld. Ook de natriumconcentraties van plasma en rode cellen werden niet meetbaar beïnvloed.

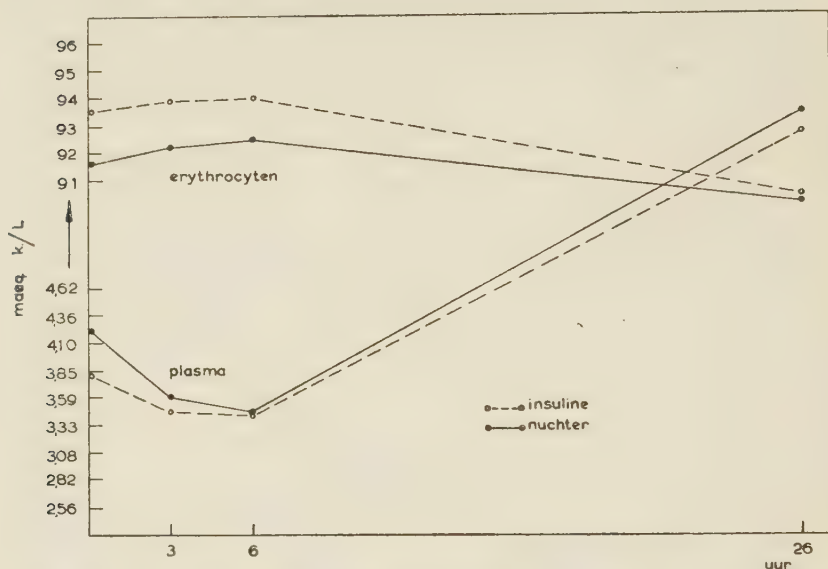


Figuur 15. Veranderingen in gemiddelde kaliumconcentraties in plasma en erythrocyten voor en na i.v. insuline (9 niet diabetes patiënten).

Uit figuur 15 blijkt, sterker nog dan uit figuur 14, de verandering der kaliumcurven door insuline. De opname verminderde, de uittreding werd versneld, zodat ook hier de indruk van een „verzadigde” stofwisseling werd verkregen. Daar het echter niet uitgesloten leek, dat de lagere beginwaarden aan kalium en glucose van invloed waren op de kaliumopname, werd bij dezelfde patiënten een glucose-insuline belasting doorgevoerd, met 50 g resp. 0,1 E/kg lichaamsgewicht (figuur 16).

De nuchtere plasmaconcentraties van 4,23-, 3,57-, 3,58- en 6,28 m aeq/l verschilden nauwelijks van die in figuur 15, evenmin de procentuele kaliumopname van 14,4 resp. 14,8.* De kaliumdaling in het plasma na glucose-insuline was echter significant kleiner ($P = 0,02$) dan na insuline alleen, resp. van 4,23 tot 3,79 tegen

4,23 tot 3,31, een verschijnsel, waarvoor wij geen duidelijke verklaring konden vinden.



Figuur 16. Veranderingen in gemiddelde kaliumconcentraties in plasma en erythrocyten voor en na glucose-insuline (9 niet diabetes patiënten).

De kaliumuittreding na 6 uur incubatie, na insuline alleen, was aanmerkelijk sneller dan na glucose-insuline, waarvoor de grotere hoeveelheid beschikbare energie (plasmasuiker) na glucose-insuline waarschijnlijk aansprakelijk is. Opmerkelijk was het effect van insuline op de procentuele opname na 3 uur bij 2 groepen diabetespatiënten met en zonder insuline (tabel 14). Hieruit bleek steeds, dat een lage opname door insuline werd gestimuleerd, een normale daarentegen verminderd.

De procentuele kaliumdaling in het plasma van de diabetesgroep met insuline bleek na de extra insulinetoediening gemiddeld van 3,5 tot 6,6% te stijgen, van de groep zonder insuline echter van 14,5 tot 6,3 te dalen. Hetzelfde verschijnsel kon ook bij een parallelgroep niet-diabetespatiënten worden teruggevonden. Opvallend hierbij was, dat de enige patiënt met een verbeterde kaliumopname door de erythrocyten na insuline, een patiënt met levercirrhose was, een verschijnsel, waarop wij nog zullen terugkomen. Daar uit deze gegevens de invloed van insuline op de glycolyse en kaliumstof-

wisseling der erythrocyten in vivo zeer waarschijnlijk was geworden, werd getracht een rechtsstreekse invloed van dit hormoon op bovengenoemde stofwisselingen in vitro aan te tonen.

TABEL 14

Invloed van insuline i.v. op % kaliumopname van erythrocyten bij diabetes patiënten met en zonder insuline en bij patiënten zonder diabetes.

% kaliumopname in 3 uur							
no	Diabetes			no	Niet diabetes		
	nuchter	insul.	insuline noodzakelijk		nuchter	insul.	diagnose
1	9,3	0	+	1	6,0	0	vaso-vagale collaps
2	1,4	7,6	+	2	8,2	11,3	levercirrhose
3	3,0	9,7	+	3	8,7	0	asthenie
4	14,7	9,7	—	4	10,6	8,6	normale
5	1,5	9,3	+	5	13,4	5,7	normale
6	20,8	0	—	6	17,6	1,8	hyperthyreose
7	13,6	8,9	—	7	20,0	14,3	dystr. muscul. progr.
8	8,7	6,6	—	8	21,9	13,2	dystr. muscul. progr.
				9	24,2	11,4	alopecia totalis

Hiertoe werden 26 experimenten verricht met bloed van verschillende personen (tabel 15) en het effect van verschillende insuline-concentraties met positief, negatief of twijfelachtig aangegeven. Als maat voor deze werking werd het verdwijnen van het kalium uit het plasma naar de erythrocyten en de er aan ten grondslag liggende glycolyse gebruikt. Als nauwkeurigheid der enkelvoudige kaliumbepalingen werd 1% genomen en voor die van de procentuele kaliumopname 20%* (blz. 49).

Uit tabel 15 bleek,* dat 14 der experimenten een invloed van insuline vertoonden, 8 waren negatief en 4 dubieus. Van de 7 experimenten met bloed van normale personen waren er slechts 2 positief, terwijl de negatieve uitkomsten allen optraden bij patiënten, waarvan de erythrocyten een normale of verhoogde glycolyse en kaliumopname vertoonden, zodat er in die gevallen waarschijnlijk reeds een maximale glycolyse en kaliumopname bestond, die niet verder te beïnvloeden was, zoals o.a. door PARK [70] verondersteld wordt. Bij de 9 patiënten met diabetes mellitus waarvan het bloed werd onderzocht, werd 6 maal een positief resultaat gevonden.

TABEL 15

*Invloed van insuline in vitro op kaliumopname en glycolyse door erythrocyten bij 26 personen.**

No	ziekte	resultaat			% K opname	glycolyse	% K opname	glycolyse	dosering insuline (E)	voorafgaande incubatietijd (uren)
		+	-	±						
1	normale			+	0	13	2	13	1×10^{-4}	6
2	haemol. anaemie		+		6	21	6	19	1×10^{-2}	4.30
3	levercirrhose	+			4	5	12	9	1×10^{-2}	3
4	levercirrhose	+			1	7	14	13	4×10^{-3}	3.30
5	diabetes	+			7	10	14	13	4×10^{-4}	3.30
6	diabetes	+			0	4	5	12	6×10^{-4}	7
7	diabetes	+			5	4	12	10	8×10^{-4}	
8	diabetes	+			0	3	8	12	1×10^{-2}	9
9	normale		+		12	10	12	10	1×10^{-3}	1.30
10	normale	+			1	4	6	9	1×10^{-3}	5.45
11	diabetes	+			0	4	6	10	8×10^{-3}	6.15
12	diabetes (behandeld)		+		8	10	8	11	8×10^{-3}	4
13	normale	+			0	7	5	10	1×10^{-3}	6
14	decomp. cordis		+		4	10	5	10	5×10^{-3}	6
15	levercirrhose	+			3	7	15	14	1×10^{-2}	3.15
16	diabetes	+			4	5	12	9	1×10^{-3}	6.15
17	longinfiltraat	+			10	11	20	21	1×10^{-2}	2
18	normale		+		12	12	12	12	1×10^{-3} — 1×10^{-0}	0
19	hepatitis		+		10	14	10	14	1×10^{-2} — 1×10^{-4}	0
20	asthma (herstel)	+			6	7	17	10	1×10^{-2}	6
21	hepatitis		+		15	17	15	17	1×10^{-2} — 1×10^{-4}	0
22	darmbloeding	+			4	7	13	14	1×10^{-4}	6
23	diabetes			+	7	9	9	10	1×10^{-2} — 1×10^{-6}	6
27	normale			+	9	11	12	14	1×10^{-3} — 1×10^{-5}	5
25	diabetes (behandeld)		+		10	12	10	13	2×10^{-3} — 2×10^{-5}	2
26	normale			+	10	12	13	14	2×10^{-1}	3.30
Totaal		14	8	4						

Samenvatting.

15 patiënten met diabetes mellitus, waarvan 8 met insuline behandeling, werden onderzocht. Het kaliumgehalte in het plasma bleek hoger te liggen dan bij de normalen, het natriumgehalte hiervan en de kalium- en natriumconcentraties der erythrocyten waren normaal. Bij de beoordeling van de kaliumopname door de rode bloedlichaampjes tijdens incubatie, konden 2 groepen worden onderscheiden, waarbij bleek dat de erythrocyten van de patiënten die met insuline werden behandeld door een lagere kaliumopname en een tragere kaliumafgifte waren gekenmerkt, waarvoor waarschijnlijk de vertraagde glycolyse aansprakelijk kan worden gesteld. De procentuele kaliumopname in 3 uur der 2 groepen bedroeg 2,5 resp. 12,1%, de stijging tussen 6-, en 26 uur 8,9 resp. 39,2%. Een verband tussen duur der diabetes (-behandeling) en kaliumopname kon niet worden opgemerkt, waarbij echter het kleine aantal patiënten met langere ziekteduur mede een rol kan spelen.

Bij de beschouwing der individuele gevallen kwam de neiging tot verlengde kaliumopname te voorschijn, die soms 9 uur aanhield en mogelijk verband hield met de vergrote energievoorraad (plasmasuiker). Intraveneus insuline, in vivo toegediend, deed de glycolyse en kaliumcurven der erythrocyten vervlakken, terwijl het kaliumgehalte in de erythrocyten erdoor werd verhoogd. Deze vervlakking der kaliumcurven trad ook op bij een controlegroep van niet diabetes patiënten. Insuline toevoeging in vitro bleek in 14 van 26 experimenten een significante stijging der glycolyse en kaliumopname te veroorzaken. Onwerkzaam was insuline op erythrocyten met een reeds maximale glycolyse.

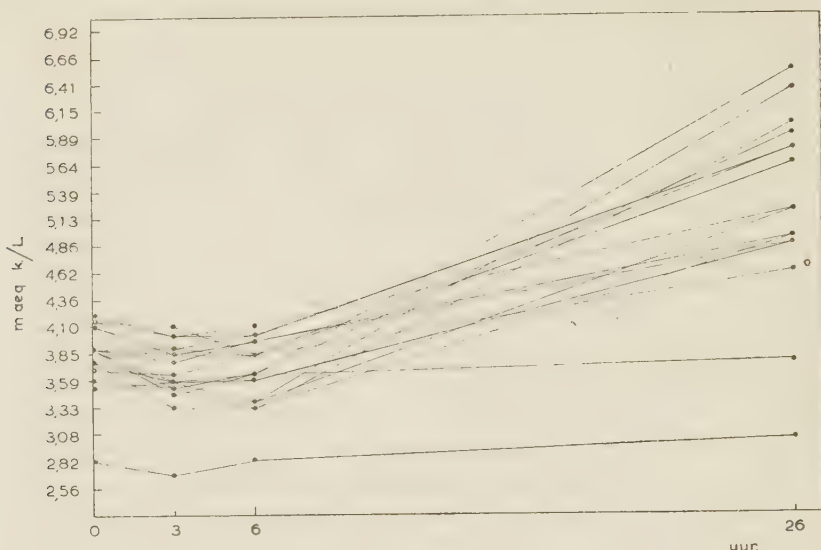
2. Levercirrhose.

Bij 18 patiënten met een klinisch zekere levercirrhose werden de electrolytenuitwisseling en koolhydraat-stofwisseling der erythrocyten geanalyseerd. De leeftijd varieerde van 19 tot 57 jaar. De plasmacurven op de tijdstippen 0-, 3-, 6- en 26 uur werden in figuur 17 neergelegd.

De gemiddelde waarden bedroegen 3,85-, 3,61-3, 72- en 5,21 m aeq kalium/l. De procentuele kaliumopname was gemiddeld 4,4, wat significant lager lag dan die der normalen ($P = 0,0004$) (M.C.).

Er kon geen verband met de leeftijd worden vastgesteld. De nuchtere kaliumwaarden van het plasma bleken lager te zijn dan

bij de normalen ($P = 0,007$) (M.C.), waarop in de literatuur herhaaldelijk de aandacht is gevestigd [156].



Figuur 17. Veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l) tijdens 26 uur incubatie (18 patiënten met levercirrhose).

Het natriumgehalte in het plasma bedroeg gemiddeld 143,0 m aeq/l met uiterste waarden van 136,0 en 153,3, terwijl de uitersten van het kaliumgehalte 2,82 en 4,23 bedroegen. De kaliumconcentratie in de erythrocyten bedroeg gemiddeld 96,6 m aeq/l; bij de statistische analyse werd een aanwijzing gevonden, dat deze waarde hoger lag dan bij de normalen ($P = 0,058$) (M.C.), terwijl het iets verlaagde natriumgehalte van 13,6 m aeq/l eveneens deze aanwijzing inhield ($P = 0,055$) (M.C.). Er kon geen duidelijk verband worden gevonden tussen de electrolyten-concentraties van plasma en erythrocyten onderling, of tussen deze waarden en de glycolytische activiteit der erythrocyten. Wel viel de grote spreiding der natriumconcentraties in de erythrocyten op, varierend van 3,6 tot 30,7 m aeq/l, die geen duidelijk verband vertoonden met het klinische beeld (tabel 16).

De koolhydraatstofwisseling der erythrocyten, gemeten aan de glycolyse, vertoonde een duidelijke parallel met de procentuele kaliumopname, en lag in de grootte-orde van de diabetes-patiënten met insuline.

De gemiddelde glycolysesnelheid bedroeg 6,5 mg per 100 ml bloed

TABEL 16

Klinische en biochemische gegevens van 18 patiënten met levercirrhose. (+ = pos, — = neg, nb = niet bepaald).

no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
bilirubine	14,5	0,8	2,3	10,0	2,9	—	21,9	2,3	19,5	1,6	5,2	2,6	16,5	1,2	1,5	2,5	1,1	15,4
snelheid	direct		direct	direct	direct		93%	direct		indir.	direct	direct	85%	indir.	indir.	direct	indir.	direct
alk. fosfatase	33,8	16,3	17,6	21,2	14,2		27,8	15,3	17,8	14,2	13,3	—	21,4	13	16,4	10,2	6,8	33
T.T.T.	7,8	10,2	8,3	3,7	9,1		6,2	4,5	5,2	6,1	9	12	4,4	8,2	4,6	7,7	10,0	5,5
cholesterol	3,3	2,3	2,0	2,17	2,7		3,1	2,5	2,24	—	2,68	1,6	—	2,2	2,08	1,9	2,14	3,3
esters	33%	62%	46%	70%	57%		46%	53%	—	—	50,7%	33%	—	2,2	67,5%	61%	27%	49%
gros	1,4	1,5	1,1	1,7	1,4		1,5	1,7	1,1	1,5	2,1	1,3	1,5	1,4	1,4	1,0	1,3	1,4
galactose	++	++	n.b.	n.b.	—		++	n.b.	+	+	—	n.b.	n.b.	+	+	—	n.b.	n.b.
broomsulf.	+	n.b.	+	+	+		+	—	+	—	+	spoor	—	+	+	spoor	spoor	+
alb.	37,2	35,9	41,3	39,4	34,6		37,2	41,8	31,8	41,1	33,3	39,1	35,8	46,0	32,8	21,3	41,1	27,2
γglob.																		
album spectrum																		
B.S.E.	31,8	31,1	25,9	32,1	29,2		31,8	29,1	34,2	27,5	28,7	30,7	26,1	27,9	48,1	33,0	26,7	48,8
urobilinurie	35/73	40/57	17/41	36/56	45/63		32/60	17/25	39/67	30/61	25/49	15/35	15/35	34/58	40/51	22/37	43/58	53/84
K	—	92,1	96,8	92,4	96,2		97,5	—	108,9	104,0	97,8	98,7	—	95,6	95,1	84,1	±	++
cyten	—																96,0	96,6
Na	—	7,0	8,9	13,4	9,4		9,1	—	8,8	30,7	6,0	27,3	—	3,6	16,2	5,8	21,3	9,2
% K																		
opname/3 u.	0	0	1,5	1,6	1,7	1,8	3,1	3,3	4,5	4,5	4,7	5,1	6,3	8,2	9,8	9,8	11,5	11,9
glycolyse																		
mg/100 ml/n.	4,9	4,9	5,2	3,9	7,0	6,5	4,7	6,2	5,3	6,6	9,1	5,2	8,3	6,2	7,7	7,8	9,1	8,4
hepatomegalie	+	±	+	+	+		+	—	+	—	±	—	±	±	+	?	+	+
splenomegalie	+	+	±	+	+		+	±	+	+	±	±	±	±	±	+	+	+
ascites	+	—	+	—	—		±	—	+	—	—	±	—	—	±	+	—	±

per uur, wat tot de laagste waarden behoort van alle groepen, die werden geanalyseerd. Van één patiënt, waarvan de cirrhose in 1947 operatief werd vastgesteld, en die in slechte toestand verkeerde, werd gedurende enige maanden het verloop der kaliumcurven gevolgd. De procentuele kaliumopnamen werden in tabel 17 vastgelegd.

TABEL 17

Biochemische gegevens van plasma en erythrocyten van een patiënt met levercirrhose, vervolgd gedurende 5 maanden.

	datum	% K opname	glycolyse mg %/uur	bilirub.	alk. fosf.	m aeq/liter			
						ery K	ery Na	plasma Na	plasma K
1	13-2-'55	0	4,7	21,9	27,8	97,5	9,1	140,0	4,38
2	2-3-'55	4,5	5,0	14,5	24,5	111,3	4,6	139,1	4,23
3	5-4-'55	3,1	5,2	16,7	23,8	105,2	9,2	140,0	4,17
4	26-4-'55	0	4,9	19,5	32,0	104,1	6,2	140,0	3,51
5	15-7-'55	9,1	8,3	16,5	17,8	92,4	13,4	142,4	4,10

Gedurende de eerste 4 bepalingen ging de toestand langzaam achteruit, ondanks dieet, vitaminen, pernaemon forte, etc. Uiteindelijk werd hydrocortison gegeven in een dosering van 75 mg daags, waarop in vrij korte tijd verbetering optrad in de leverfuncties. Na 3 maanden hydrocortison-therapie bleek de procentuele kaliumopname tot 9,1 te zijn opgelopen, wat significant hoger was dan dat der voorgaande waarden ($P = 0,05$).^{*} Helaas ontrok de patiënt zich hierop aan verdere behandeling, waarop hij vrij spoedig achteruit ging, en ruim een jaar later succombeerde. Gedurende de gehele periode vóór de hydrocortisontherapie bleek het intracellulaire kaliumgehalte te zijn verhoogd; het daalde pas tijdens deze behandeling. Hiertegenover stond een duidelijk verlaagd natriumgehalte in de erythrocyten, dat na de hydrocortison behandeling normaal werd. Of dit op toevalligheid berustte, konden wij wegens vertrek van de patiënt helaas niet verder beoordelen.

Om meer over de achtergrond der slechte kaliumopname en glycolyse georiënteerd te raken, werd 3 maal een kruisproef verricht tussen bloed van bovengenoemde patiënt en van normale personen, waarbij zowel de erythrocyten van de „cirrhose-patiënt” met normaal plasma werden geïncubeerd als „cirrhose-plasma” met normale erythrocyten. Het bloed werd hierbij koud gecentrifugeerd, plasma en erythrocyten gescheiden, en zonder verdere

wassing der erythrocyten in gelijke verhoudingen gemengd. Het wassen der erythrocyten werd vermeden, daar uit andere proeven gebleken was, dat hierdoor hun stofwisselingsprocessen gevoelig konden worden beschadigd. Door de grote centrifugale kracht (8100 g) werd het intercellulaire plasma tot een minimum gereduceerd. Tot onze verrassing bleek de slechte kaliumopname te worden veroorzaakt door het plasma van de cirrhose-patiënt (tabel 18 en figuur 18).

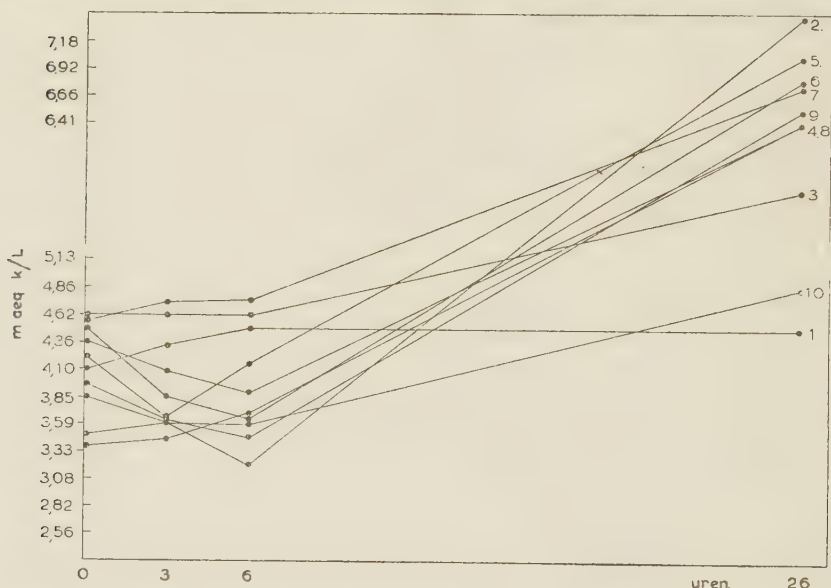
TABEL 18

Kruising tussen plasma en erythrocyten van patiënt met levercirrhose en 3 normalen.

	1		2		3		4		5	
	plasma cirrhose + ery's norm I		ery's cirrhose + plasma norm I		plasma cirrhose + ery's norm II		ery's cirrhose + plasma norm II		plasma norm I + ery's norm II	
	K m aeq/l	glucose mg/100 ml	K m aeq/l	glucose mg/100 ml	K m aeq/l	glucose mg/100 ml	K m aeq/l	glucose mg/100 ml	K m aeq/l	glucose mg/100 ml
uur										
0	4,10	96	3,85	89	4,61	103	4,34	87	4,23	94
3	4,35	93	3,59	49	4,61	100	4,10	51	3,65	52
6	4,50	89	3,20	11	4,61	95	3,90	14	4,14	9
26	4,50	80	7,49	11	5,77	83	6,41	10	7,05	10
% K opname	0		6,6		0		5,9		13,6	
datum										
	5-4-'55				7-4-'55				7-4-'55	

	6		7		8		9		10	
	plasma norm II + ery's norm II		plasma norm II (>2 weken kou) + ery's cirrhose		plasma cirrhose + ery's norm III		ery's cirrhose + plasma norm III		ery's cirrhose + plasma cirrhose	
uur	K m aeq/l	glucose mg/100 ml	K m aeq/l	glucose mg/100 ml	K m aeq/l	glucose mg/100 ml	K m aeq/l	glucose mg/100 ml	K m aeq/l	glucose mg/100 ml
0	4,50	96	4,54	90	3,39	96	3,97	92	3,51	98
3	3,85	54	4,73	—	3,46	—	3,63	—	3,60	—
6	3,64	12	4,74	52	3,75	88	3,46	13	3,62	72
26	6,84	11	6,80	—	6,41	—	6,54	—	4,87	—
% K opname datum	14,3 7-4-'55		0 26-4-'55		0 26-4-'55		8,1 26-4-'55		0 26-4-'55	

Uit tabel 18 blijkt, dat de glycolyse en kaliumopname van normale erythrocyten in sterke mate werden geremd door het plasma van de cirrhosepatiënt. Zo werd bij de eerste kruisproef in 26 uur slechts 16 mg% glucose verbruikt. Kaliumopname was geheel afwezig, terwijl de erythrocyten van de cirrhosepatiënt een veel grotere kaliumopname (17% in 6 uur) vertoonden en hun glycolyse normaal werd (13 mg/100 ml per uur). Bij de volgende



Figuur 18. Verloop van de kaliumcurven in plasma van de experimenten 1—10 in tabel 18.

kruising met een tweede donor was de opname door de normale erythrocyten wederom geheel afwezig tijdens de incubatie met het cirrhose-plasma. Ter controle werden de normale erythrocyten ook in hun eigen plasma en in het plasma van de eerste normale donor, dat 2 dagen voordien was afgenomen en bij 4°C bewaard, geïncubeerd. De procentuele opname bedroeg 14,3 resp. 15,8. De in normaal plasma geïncubeerde erythrocyten van de patiënt hadden nu een procentuele kaliumopname van 12,9 na 6 uur; na 3 uur bedroeg deze 6. Het plasma van de normale persoon werd hierop 19 dagen bij 4°C anaëroob bewaard en bleek toen zijn activerende eigenschappen geheel te hebben verloren. De erythrocyten van de cirrhose-patiënt vertoonden na incubatie met dit plasma nu in het geheel geen opname van kalium meer. Tegelijk werd met een derde normale persoon nogmaals een kruisproef

verricht, wederom met het eerste resultaat. De procentuele kaliumopname door de erythrocyten van de cirrhose-patiënt bedroeg nu 8,1 resp. 12,9 na 3 en 6 uur, terwijl de normale erythrocyten wederom niet in staat waren tot kaliumopname of redelijke glycolyse. In de eerste 2 experimenten bleek ook de kaliumuittreding bij normale erythrocyten tussen 6 en 26 uur door het „cirrhose-plasma” te worden geremd, terwijl in alle gevallen de passieve uitwisselingsnelheid van kalium en natrium bij de „cirrhose-erythrocyten” door normaal plasma werd vergroot. Het 3 weken bewaarde plasma dat geen kaliumopname bij de „cirrhose-erythrocyten” meer kon veroorzaken, bleek de vergrote passieve uitwisselingssnelheid echter nog te blijven veroorzaken. Uit deze gegevens waren wij geneigd de geremde kaliumopname en glycolyse aan een tekort aan bepaalde plasmafactoren toe te schrijven, die dan in normaal plasma, ondanks anaëroob conserveren bij 4°C, in enkele weken zouden moeten zijn verdwenen. Aan de andere kant zou ook remming door pathologische stofwisselingsproducten of antilichamen mogelijk zijn, die dan echter geen hechte binding met de erythrocyten konden hebben, gezien het prompte herstel der stofwisseling na incubatie met normaal plasma. De indirecte en directe Coomb's test was echter bij herhaling negatief. Ook een veranderde samenstelling van de plasma eiwitten kon zeker van invloed zijn door verandering o.a. der Donnan Factoren.

Tot een voortgezette bestudering van de problemen zijn wij niet gekomen, daar, zoals gezegd, de patiënt zich aan verdere behandeling onttrok. Uit latere proeven met bloed van lijders aan levercirrhose bleken de steeds gevonden vertraagde koolhydraatstofwisseling en gebrekkige kaliumopname, zowel met insuline als met inosine (hypoxanthine riboside) in lage concentraties in vitro toegediend, te kunnen worden verbeterd.

Samenvatting

18 patiënten werden onderzocht. Het kaliumgehalte in het plasma lag gemiddeld lager dan bij de normalen. De glycolyse en kaliumopname door de erythrocyten was zeer laag, resp. 6,5 mg/100 ml/uur en 4,4%. Bij incubatie van plasma van een lijder aan ernstige levercirrhose met normale erythrocyten en omgekeerd, bleek het levercirrhose-plasma een sterk remmende werking op de glycolyse en kaliumopname van de normale erythrocyten te vertonen.

3. Anaemieën.

Daar het uit de voorgaande onderzoeken waarschijnlijk was geworden, dat er een nauwe betrekking bestond tussen de maat van glycolyse en kaliumopname en deze processen zich in de erythrocyten afspeelden, hebben wij getracht na te gaan of verschillende ziekten van het erythrocytaire systeem zelf misschien stoornissen in deze stofwisselingen zouden vertonen.

Onderzocht werden 2 patiënten met hypochrome anaemie, 3 met anaemie door acuut bloedverlies, 2 gevallen van aplastische anaemie en 8 haemolytische anaemieën, waarvan 3 zeker tot de hereditaire sphaerocytose behoorden, de 4e waarschijnlijk, terwijl de oorzaak der andere vier niet werd gevonden. Met name werden geen antilichamen aangetoond. Bepaling van het gereduceerde glutathiongehalte werd echter niet verricht. Hiernaast werden 3 gevallen van soms lichte anaemie bij M. WALDENSTRÖM, een ernstige anaemie bij M. KAHLER en één geval van paroxysmale nachtelijke haemoglobinurie¹⁾ onderzocht. Tenslotte werden 2 anaemieën bij acute myeloïde leucaemie geanalyseerd. De gevonden uitkomsten werden voor zover noodzakelijk op 50% haematocrietwaarden omgerekend, waarbij rekening moest worden gehouden met het feit, dat bij een lage haematocrietwaarde de beschikbare energie (plasmaglucose) in de – relatief grotere – plasma-ruimte langer beschikbaar bleef dan wanneer er normale verhoudingen van 50% zouden hebben bestaan.

a. Hypochrome anaemie

Uit deze 2 gevallen waren geen conclusies te trekken. Bij beiden lag de procentuele kaliumopname te laag, nl. 8,3 en 9,0 ($P = < 0,01$),* terwijl het kaliumgehalte der erythrocyten duidelijk verhoogd was, nl. 108,7 en 106,4 m aeq/l, een afwijking, die ook door ROEGHOLT [17] werd gevonden. De natriumconcentraties waren niet afwijkend

b. Acuut bloedverlies

Hierbij werd merkwaardigerwijze een zeer sterk geremde kaliumopname gevonden, nl. van 1,5-, 5,1- en 0%. De concentraties in de rode cellen waren hoog voor kalium, resp. 103,5-, 104,3- en 119,5 m aeq/l, terwijl het natriumgehalte bij 2 der gevallen zeer laag was,

¹⁾ Voor de mogelijkheid tot onderzoek bij deze momenteel enige aan ons in Nederland bekende Marchiafava-anaemie zijn wij Dr. S. I. de Vries, Amsterdam, veel dank verschuldigd.

nl. 14,3-, 2,1- en 1,2 m aeq/l. Een verklaring hiervoor hebben wij niet kunnen vinden; mogelijk speelt het verhoogde reticulocyten-aantal een rol voor de electrolyten verhoudingen. De sterk geremde kaliumopname leek ons waarschijnlijk te worden veroorzaakt door inwerking van bijnierschorshormonen als „stress” reactie op de sterke bloeding, waarover de lage haematocrietwaarden (resp. 34,2-, 23,0- en 17,5%) een goede orientatie gaven. Gedrag en samenstelling van deze erythrocyten toonde nl. overeenkomst met die onder invloed van corticosteroiden.

c. Aplastische anaemie

Het ene geval vertoonde een te hoge kaliumopname van 17,6% in 3 uur, het andere een normale van 11,3, zonder dat de ziekte-beelden sterk uiteenliepen. De erythrocyten toonden een kalium-gehalte van 95,6 en 108,0. Duidelijk afwijkend was het natrium-gehalte der cellen, nl. 6,9 en 8,3 m aeq/l.

d. Haemolytische anaemieën

Deze groep, waarvan er zeker 3, mogelijk ook een 4de, tot de congenitale sphaerocytose behoorden, vertoonde een opmerkelijk ver-grote glycolyse van 17,9 mg per 100 ml bloed per uur en een procen-tuele kaliumopname van 18,3. De daling was significant groter dan van de normale groep. ($P = 0,002$).*

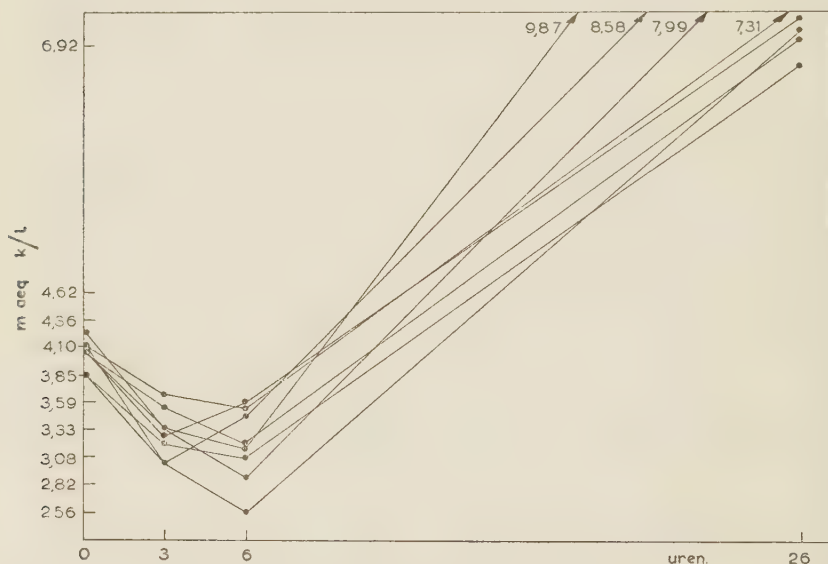
De gemiddelde kaliumwaarden in het plasma op 0, 3, 6 en 26 uur bedroegen 4,05-, 3,21-, 3,18- en 7,70 m aeq/l. Het natriumgehalte van het plasma was geheel normaal, het kaliumgehalte der erythro-cyten van 97,09 m aeq/l was aan de hoge kant, het natriumgehalte der erythrocyten geheel normaal, 15,03 m aeq/l (tabel 19 en figuur 19).

TABEL 19

Kalium-en natriumconcentraties in erythrocyten, glycolysesnelheid en % kaliumopname. (8 pat. met haemolytische anaemie (h.a.) of congenitale sphaerocytose (c.s.).

No	1	2	3	4	5	6	7	8	gemid-deld
ery. K (m aeq/l)	95,8	92,7	95,6	92,8	112,4	90,2	107,7	89,5	97,09
ery. Na m aeq/l	14,7	20,1	19,1	13,9	16,2	19,5	9,1	17,6	15,03
% K opname in 3 uur	21,7	19,1	21,2	16,7	11,9	17,5	12,5	26,6	18,4
glycolyse snelheid (mg/100 ml/uur)	21	17	20	18	12	18	15	22	17,9
doorsnede μ	6,3	7,3	6,7	7,4	7,2	6,4	7,2	6,2	
diagnose	c.s.	h.a.	c.s.?	h.a.	h.a.	c.s.	h.a.	c.s.	

Het aantal reticulocyten varieerde van 3 tot 17%, en kon dus geen oorzaak zijn voor de verhoogde glycolyse en kaliumopname. Bij de natriumuitwisseling werd een aanvankelijke uitdrijving uit de erythrocyten van gemiddeld 1,5 m aeq/l in de eerste 3 uur gevonden, tegen 0,75 m aeq/l kalium, dat werd opgenomen. Bij één geval werd zelfs een aanvankelijke uitdrijving van 16 m aeq/l gevonden, tegen een kaliumopname van 1 m aeq/l. Op het inconstante van dit verschijnsel wezen wij reeds bij de beoordeling der normale erythrocyten-activiteit; wij zien hierin een argument voor de relatieve onafhankelijkheid der kalium- en natrium „pompen” in de erythrocytenmembraan. De gemiddelde natrium waarden in de erythrocyten op de tijdstippen 0-, 3-, 6- en 26 uur, bedroegen 15,03-, 13,53-, 15,79- en 37,59 m aeq/l cellen.



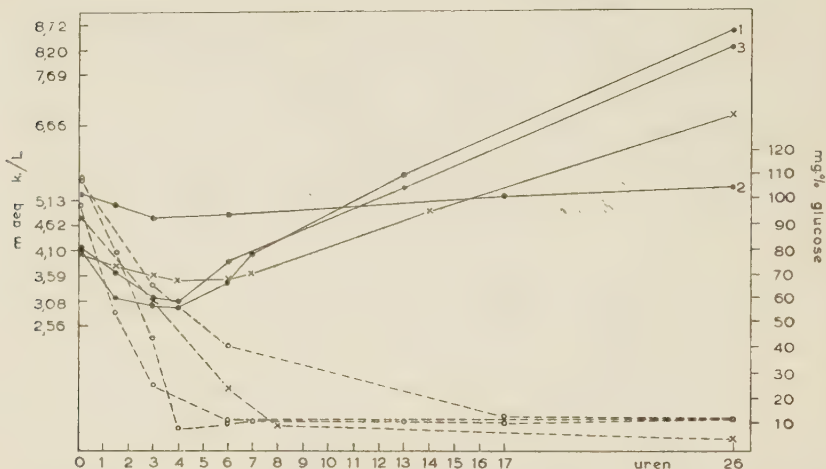
Figuur 19. Veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l) tijdens 26 uur incubatie (8 patiënten met haemolytische anaemie).

Bij één geval van congenitale haemolytische anaemie werden de electrolytenverschuivingen en glycolyse der erythrocyten voor en na milttextirpatie onderzocht, en ook het in de milt aanwezige bloed geanalyseerd. Dit bestond uit gemengd arterieel, veneus en (voornamelijk) sinus bloed, daar het zonder druk na scherp klieven der milt werd opgevangen. De gegevens werden in tabel 20 en figuur 20 samengevat.

Samenstelling van kalium- en natriumconcentraties in plasma en erythrocyten uit perifeer- en mildbloed naast verschuivingen hierin tijdens 26 uur incubatie (congenitale sphaerocytose).

[illegible]

Tijdens het eerste onderzoek werd een haemoglobinegehalte van 90% gevonden, met $4,4 \times 10^6$ erythrocyten/ml, de gemiddelde doorsnede bedroeg $6,2\mu$, de haematocrietwaarde 37,4%. Het bilirubinegehalte bedroeg 7,7 E met een één-minuten percentage van 11,5, de reticulocyten 15%.



Figuur 20. Veranderingen in kalium (—) en glucose (---) concentraties in plasma uit perifeer- en miltbloed (congenitale sphaerocytose) tijdens 26 uur incubatie (×-× = normalen).

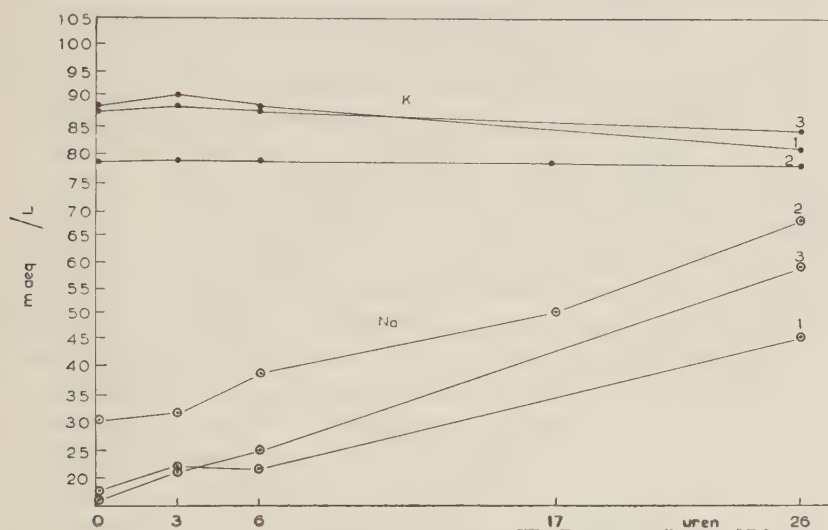
Postoperatief werd een haemoglobinegehalte van 100% gevonden met 5×10^6 erythrocyten/ml, de doorsnede was $6,3\mu$, de haematocrietwaarde 47,5%, het bilirubinegehalte 1,0 E, het aantal reticulocyten 4%.

Het miltbloed vertoonde een lichte indikking (haematocrietwaarde 42%, haemoglobinegehalte 97% met $4,9 \times 10^6$ erythrocyten/ml), vergeleken met de 2 dagen voordien gevonden prae-operatieve waarden.

Uit tabel 20 bleek, dat de prae- en post-operatieve plasmaconcentraties weinig verschilden, de procentuele kaliumopname was in beide gevallen ongeveer het dubbele van de normale grootte, evenals de glycolysesnelheid. Ook de intracellulaire electrolytenconcentraties waren aan elkaar gelijk en duidelijk lager dan normaal voor kalium, terwijl de natriumwaarden hiervan niet afweken.

Opvallend was echter het verschil in kation-toename in 26 uur, die na de operatie 17 m aeq/l groter was dan voor die tijd (figuur 21) wat zich ook in het verschil in haematocriettoename manifesteerde. Het is duidelijk, dat een toename van 37% van het kationgehalte

of bijna 16% van het volume (Ht) van ingrijpende betekenis kan zijn voor de osmotische resistentie van deze erythrocyten. Dit effect werd ook zeer duidelijk gedemonstreerd aan het verschil in praeparatief – en miltbloed. Bij dit laatste bleek er een sterke toename te zijn ontstaan van het natriumgehalte der erythrocyten, terwijl het kaliumgehalte was gedaald. Het totaal aantal kationen was echter praktisch gelijk. Desondanks bestond er een duidelijke toename in haematocrietgetal. Een verklaring hiervoor moet misschien worden gezocht in het verschil in pH, dat in de milt 7,24 bedroeg tegen 7,33 arterieel, wat een chloride- en waterverplaatsing naar de erythrocyten tot gevolg moest hebben.



Figuur 21. Veranderingen in kalium- en natriumconcentraties in erythrocyten tijdens 26 uur incubatie (zie tabel 20) ● = kalium, ○ = natrium.

De inwerking der milt had nog een ander, in vitro aantoonbaar, effect, nl. remming van glycolyse en kaliumopname, terwijl ook het door MAIZELS beschreven verschijnsel van snellere uitwisseling van natrium- dan van kaliumionen duidelijk zichtbaar werd. Het gevolg was een totale kationen toename van 36,4 m aeq/l in het miltbloed (33,4% van de totale kationenconcentratie), d.i. 14,8 m aeq/l meer dan in het perifere bloed, terwijl het volume (Ht) met 12,1% steeg tegen 8,8% in het perifere bloed. Het lijkt ons waarschijnlijk, dat deze volumen- en electrolytentoename tijdens incubatie in vitro, een afspiegeling zijn van de veranderingen, die door stase in de milt kunnen optreden. De pH in de milt was

immers veel lager dan in het perifere bloed, het natriumgehalte in de erythrocyten in de milt was aanmerkelijk hoger en het kaliumgehalte lager. De haematocrietwaarde was van 37,4 perifeer tot 42,0 in de milt, d.i. 12,1% gestegen. Misschien speelt de grote concentratie aan acetylcholine in de milt hierbij een nog andere rol dan door een pH-daling zoals TORP veronderstelde, en wel door vermeerdering der permeabiliteit der erythrocytenmembraan, waardoor een verhoogde intracellulaire concentratie aan kationen ontstaat. In vitro blijken deze permeabiliteits veranderingen in elk geval mogelijk [157] zoals wij zelf ook zagen (blz. 104).

Uit bovengenoemde gegevens komt een weinig bekend aspect van door de milt veroorzaakte haemolysewerkingen naar voren, een osmotische factor, die bij hypersplenie uiteraard versterkt aanwezig kan zijn. Volgens PONDER [1] is het critische volume van erythrocyten, waarop een verdere zwelling tot erythrolyse leidt, tussen 1,7 en 2,1 maal het oorspronkelijke volume. Bij beschadiging door lysinen blijkt dit critische volume vaak aanmerkelijk eerder te worden bereikt, soms al bij 1,1 maal het oorspronkelijke volume, wat door WILBRANDT [158] de colloid-osmotische erythrolyse werd genoemd, gebaseerd op een onevenredige uitwisseling van kalium en natrium na beschadiging der erythrocytenmembraan door de lysine werking. Volgens SINGER [159] zou o.a. lysolecithine in de milt sphaerocytose veroorzaken, terwijl WILBUR [160] in vitro aantoonde dat lysolecithine- haemolyse werd versneld door vergroot erythrocyten volume. Het lijkt ons waarschijnlijk, dat bovengenoemde mechanismen der kalium- natriumuitwisseling hierbij betrokken zijn. Het gunstige effect van splenectomie juist bij osmotisch fragiele erythrocyten (sphaerocyten) kan uit boven genoemde miltwerking ongedwongen worden verklaard. Het gunstige effect van corticosteroidoediening bij sommige haemolytische anaemieën kan men niet zonder meer door remming van deze permeabiliteitsveranderingen en hierdoor verminderde ionenverschuivingen verklaren daar wij waarschijnlijk konden maken, dat door corticosteroidoediening de toename van kationen naar de cellen juist werd versneld.

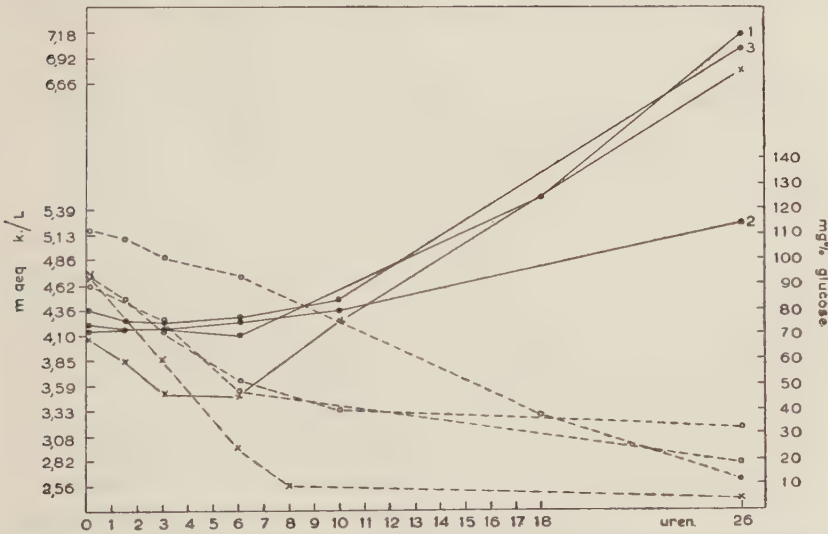
Wel is een verlaging der ontremde glycolyse hierdoor zeer waarschijnlijk, wat misschien een gunstig effect op de functie der erythrocytenmembraan zou kunnen hebben, zodat de corticosteroiden-therapie in deze gevallen dus als een tweesnijdend zwaard zou moeten worden opgevat.

e. Anaemieën bij de macroglobulinaemie van Waldenström
Wij waren in de gelegenheid het bloed van 3 patiënten met macroglobulinaemie te analyseren. Bij alle 3 patiënten vonden wij een gestoorde kalium opname en glycolyse. De gegevens werden in tabel 21 en figuur 22 samengevat. De concentraties van natrium

TABEL 21

Veranderingen in kalium- en glucoseconcentraties in plasma tijdens 26 uur incubatie (3 patiënten met M. Waldenström).

uur	1		2		3	
	plasma		plasma		plasma	
	K m aeq/l	glucose mg %	K m aeq/l	glucose mg %	K m aeq/l	glucose mg %
0	4,23	111	4,12	94	4,36	90
1½	4,12	108	4,12	84	4,30	
3	4,12	101	4,18	72	4,30	76
6	4,10	93	4,23	52	4,32	48
10			4,36	40	4,45	
18	5,51	38				
26	7,18	12	5,26	34	7,05	19
% K opname in 3 uur	2,6		0		1,4	
glycolyse mg/100 ml/uur	3		7		5	



Figuur 22. Veranderingen in kalium- en glucoseconcentraties in plasma tijdens 26 uur incubatie (3 patiënten met M. Waldenström). ×-× = normalen).

in plasma en kalium en natrium in de erythrocyten waren niet afwijkend en worden daarom niet verder vermeld.

Uit deze gegevens blijkt, dat alle 3 patiënten een zeer slechte glycolyse en kaliumopname vertoonden. Daar de mogelijkheid werd geopperd, dat de macroglobulinen als een enveloppe de erythrocyten zouden omringen en zo de uitwisseling met het plasma verminderen, werd een kruisproef verricht van bloed van de derde patiënt met dat van een gezonde donor. De erythrocyten werden hierbij éénmaal met physiologisch zout van 4°C gewassen.

Hierbij bleek (tabel 22 en figuur 23) dat de erythrocyten van de patiënt met macroglobulinaemie, ondanks normaal plasma, een

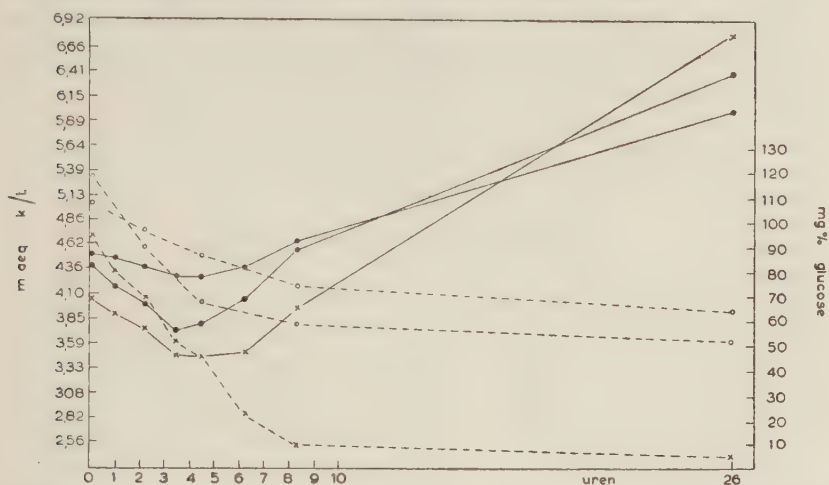
TABEL 22

Kruising tussen plasma en erythrocyten van een patiënt met macroglobuline en van een normale.

uur	erythrocyten Waldenström + plasma donor		plasma Waldenström + erythrocyten donor	
	K m aeq/l	glucose mg %	K m aeq/l	glucose mg %
0	4,51	108	4,40	118
1	4,50		4,18	
2.20	4,38	96	4,00	90
3.40	4,28		3,75	
4.45	4,28	86	3,80	67
6.20	4,40		4,05	
8.30	4,67	74	4,56	58
26	6,02	65	6,41	52
% K opname	} 5,1		14,8	
glycolyse				
mg/100 ml/uur	4,6		10,2	

slechte glycolyse en kaliumopname bleven behouden (5,1% kaliumopname in 3 uur, 4,6 mg glucose verbruik/100 ml/uur), terwijl de in het „macroglobulinaemie plasma” geincubeerde normale erythrocyten een procentuele kaliumopname van 14,8 vertoonden met 10,2 mg glucose-verbruik/100 ml/uur. Echter werd de glycolyse der normale erythrocyten na 5 uur duidelijk minder dan normaal, zodat toch ook rekening moet worden gehouden met remming van de normale erythrocyten door de macroglobulinen na een latente periode. Verder onderzoek in deze richting werd niet verricht. Wel vertoonde één geval van ernstige anaemie bij de

ziekte van KAHLER eenzelfde gestoorde glycolyse met een procentuele kaliumopname in 3 uur van 5,6 en een glycolyse van 6,5 mg/100 ml/uur. Het is mogelijk, dat het éénmalige wassen met fysiologisch NaCl onvoldoende was ter verwijdering van aanwezige macroglobulinen, hoewel een functiebeschadiging door deze behandeling zeker ook mogelijk was, zoals uit dergelijke proeven herhaaldelijk is gebleken 67,82.



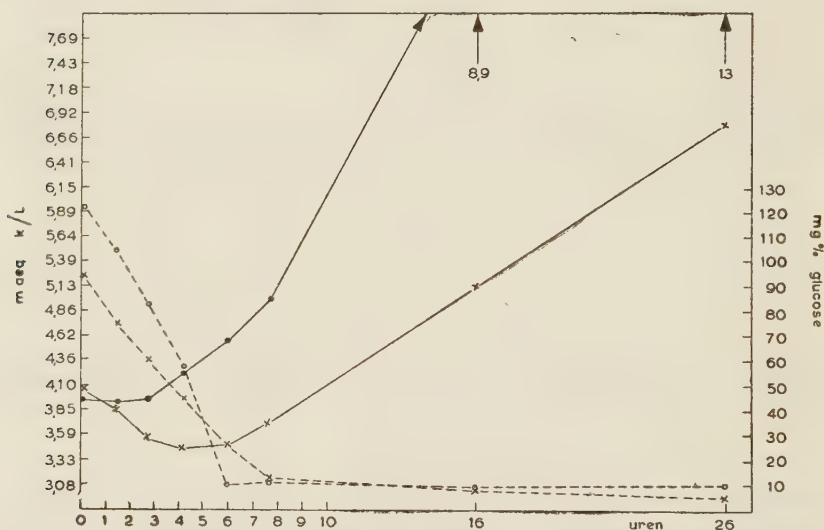
Figuur 23. Veranderingen in kalium- en glucoseconcentraties in plasma tijdens 26 uur incubatie (kruising van „Waldenström” bloed met normaal bloed) $\times-\times$ = normalen.

f. Marchiafava – Micheli anaemie

Van dit type anaemie kon één patiënte worden geanalyseerd; er bestond een anaemie met een haemoglobinegehalte van 45% en een haematocrietgetal van 21,9%, het bilirubinegehalte was tot 4,4 E verhoogd met een omzetting in één minuut van 88%, de alkalische fosfatase bedroeg 9,2 E. De doorsnede der erythrocyten bedroeg 7,8 μ . Het verloop der kaliumcurve werd in figuur 24 getekend.

Kaliumopname was geheel afwezig, integendeel was er een snelle en sterke kaliumuittreding, die na 26 uur 13 m aeq/l bedroeg, de hoogste waarde, die wij bij ons onderzoek ooit hebben gevonden. Haemolyse trad hierbij niet op. Het natriumgehalte in het plasma was hoog, 152,2 m aeq/l en daalde tot 144,2 m aeq/l na 26 uur incubatie waarbij de erythrocyten 5% in volume toenamen. De intracellulaire concentraties konden helaas niet worden bepaald. De glycolyse was sterk verhoogd tot 21 mg/100 ml/uur.

Gezien de sterke kaliumuittreding uit deze erythrocyten bij een sterk verhoogde glycolyse lijkt een ontsporing der koolhydraatstofwisseling waarschijnlijk. De 8 m aeq/l natrium, die uit het plasma naar de erythrocyten werden verplaatst, betekenen hierin 28,4 m aeq/l natriumtoename. Hiertegenover staat een verlies van 35,2 m aeq/l kalium uit de cellen in dezelfde tijd, zodat hier de algemeen geldende snellere passieve uitwisseling van natrium dan van kalium verloren moet zijn gegaan. Desondanks werd het volume met 5% vergroot, wat door de chloride shift kan zijn veroorzaakt (sterke intracellulaire acidose?).



Figuur 24. Veranderingen in kalium- en glucoseconcentraties in plasma tijdens 26 uur incubatie (Marchiafava-anaemie) $\times - \times$ = normalen.

g. Anaemie bij acute myeloïde leucaemie

Twee gevallen van acute myeloïde leucaemie werden uitvoerig onderzocht. De gegevens van de eerste patiënt werden in tabel 23 en figuur 25 verzameld. De gegevens der tweede patiënt waren in wezen hieraan gelijk.

Bij de beoordeling der glycolyse en electrolyten-uitwisseling van deze gevallen werd de storende invloed van het grote aantal leucocyten ondervonden.

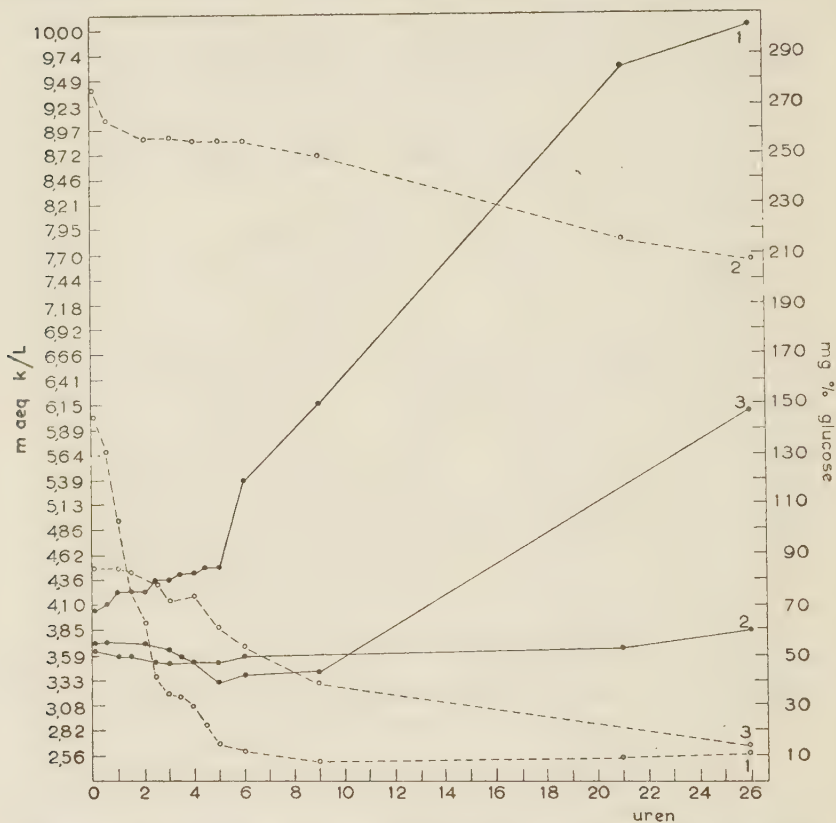
Zoals uit het eerste onderzoek blijkt was het resultaat van de stofwisseling van leucocyten en erythrocyten samen, een kaliumuittreding uit de cellen, die de eerste 5 uur traag verliep en daarna

TABEL 23

Veranderingen in kalium, natrium en glucoseconcentraties in plasma en erythrocyten tijdens 26 uur incubatie. Effect van corticosteroiden (acute myeloïde leucemie).

uur	1				2				3			
	plasma m aeq/l		erythrocyten m aeq/l		glucose mg %		plasma m aeq/l		erythrocyten m aeq/l		glucose mg %	
	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na
0	4,04	136,9	98,0	9,3	140,5		3,71	138,0	93,3	9,5	276	85,6
$\frac{1}{2}$	4,10				131		3,71				264	25,2
1	4,24				104							
$1\frac{1}{2}$	4,24				70,5							
2	4,24				63		3,71				257	
$2\frac{1}{2}$	4,33				41							
3	4,33				35		3,66	136,0	93,6	15,3	257	86,2
$3\frac{1}{2}$	4,38	134,8	96,4	5,2	34		3,61					26,5
4	4,43				30		3,51				256	
$4\frac{1}{2}$	4,50				22							
5	4,50				15		3,51				256	
6	5,40				12		3,56	34,8	94,1	20,2	256	86,7
9	6,15				7						250	
21	9,62				9		3,61				216	
26	10,0				11		3,85	123,6	93,3	45,9	207	
Ht	38,5						40,4					
leucocyten	102000						2200					
therapie {							ACTH 20 E					
							diadreson					
Ht 24 uur	39,1						30 mg					
Datum			24-3-'56				45,3		29-3-'56			6-4-'56
								ACTH 20 E				
								57,5				

snel steeg, samengaannde met het verdwenen zijn van de glucose. Daar er onder anaërobe omstandigheden werd gewerkt, mag worden aangenomen, dat de koolhydraatstofwisseling der leucocyten spoedig werd geremd [161]. Desondanks was er een glycolyse van 35 mg/100 ml cellen/uur in de eerste 3 uur, die hierna snel verminderde. Dat bij de koolhydraatstofwisseling van leucocyten



Figuur 25. Veranderingen in kalium- en glucoseconcentraties in plasma tijdens 26 uur incubatie (acute myeloïde leucaemie).

kalium in deze cellen wordt opgenomen, werd reeds door VERZAR [162] aangetoond. Daarom werd een sterke kaliumdaling in het plasma in het begin der proefneming verwacht, die echter geheel uitbleef en waarvoor misschien een afwijkende stofwisseling in de leucocyten verantwoordelijk kan zijn. De latere sterke kaliumstijging kon geheel door uittreden hiervan uit leucocyten en erythrocyten worden verklaard. Merkwaardigerwijze steeg het erythro-

cytenvolume na 26 uur incubatie in de eerste proef nauwelijks, in tegenstelling tot het volgende onderzoek 5 dagen later, tijdens een leucopenie van 2200 cellen na ACTH en di-adreson therapie. De veranderingen in electrolyten en glucoseconcentraties kwamen hierbij geheel op rekening der erythrocyten. Deze namen practisch geen kalium op (2% in 3 uur) en vertoonden een duidelijk gestoorde glycolyse (6,3 mg/100 ml/uur). Waarschijnlijk werd deze remming door de corticosteroidentherapie veroorzaakt. Tijdens deze behandeling daalde het intracellulaire kaliumgehalte in 2 weken ruim 12 m aeq/l.

De 26-urige incubatie liet bij deze proef het opvallende verschijnsel zien van de zeer sterke volumestijging der erythrocyten van 48,7 tot 57,5%, d.i. 15,3% toename van de beginwaarde; één der hoogste tijdens onze onderzoekingen gevonden waarden, in grootte-orde overeenkomend met de volumetoename bij sommige andere met corticosteroiden behandelde patiënten.

Deze gegevens doen vermoeden, dat corticosteroiden de uitwisselingssnelheid van natriumionen door de (erythrocyten)-membraan meer doen toenemen dan die van de kaliumionen, waarschijnlijk via remming der koolhydraatstofwisseling der cellulaire elementen

Samenvatting

Bij het onderzoek der erythrocyten bij verschillende anaemieën, bleek het kaliumgehalte bij hypochrome anaemie te hoog, terwijl de glycolyse en kaliumopname verlaagd waren. Dit was in veel sterkere mate het geval bij anaemieën terstond na een ernstig bloedverlies, waarbij de kaliumopname practisch geheel was opgeheven. De erythrocyten bevatten hierbij naast een te hoog kaliumgehalte een sterk verlaagde concentratie aan natrium. Mogelijk speelde een verhoogde bijnierschorsactiviteit als „stress” reactie hierbij een rol.

Acht haemolytische anaemieën werden onderzocht, waarvan 3 – mogelijk 4 – van het type MINKOWSKI-CHAUFFARD. Alle 8 vertoonden een versterkte glycolyse en kaliumopname. Van één patiënt met congenitale sphaerocytose werd het bloed voor en na miltexcisie onderzocht en met het bloed uit de milt vergeleken. Hierbij bleek dat tijdens de stase in de milt de erythrocyten kalium hadden verloren en natrium opgenomen, terwijl er een volumetoename van 12,1% was opgetreden. Tevens was de glycolysesnel-

heid in het miltbloed gedaald van 21 tot 14 mg/100 ml/uur. Door 26-urige incubatie kwam een verschil aan het licht tussen de praec- en postoperatieve totale kationentoeename. Deze was na de operatie aanmerkelijk groter, wat mogelijk door een veranderde erythrocyten-samenstelling werd veroorzaakt. De veranderingen in het miltbloed zouden een oorzaak van osmotische erythrolyse kunnen betekenen.

De erythrocyten bij een geval van paroxysmale haemoglobinurie vertoonden een versterkte glycolyse tot 21 mg/100 ml/uur, terwijl er tegelijk een sterk kaliumverlies uit de erythrocyten werd gevonden, wat wees op een ontsporing der glycolyse naast een abnormale doorlaatbaarheid voor kaliumionen.

4. Het effect van corticosteroiden op de kalium-, natrium- en koolhydraatstofwisseling van erythrocyten

Bij de beoordeling der anaemieën door acuut bloedverlies en bij de patiënten met leucaemie werd reeds met de mogelijkheid van een remmende invloed van corticosteroiden op de electrolyten- en koolhydraatstofwisseling van erythrocyten rekening gehouden.

Om hierover meer zekerheid te verkrijgen, werd het bloed van 12 patiënten, die met corticosteroiden werden behandeld, geanalyseerd, onverschillig welke de ziekteprocessen waren, die tot deze behandeling aanleiding hadden gegeven. Hiertoe behoorden sarcoidosis (2), M. HODGKIN (1), aplastische anaemie (1), long carcinoom (2), long sarcoom (1), M. ADDISON (1), polyarthritis rheumatica (1), chronische nephritis (1) en de 2 genoemde leucaemieën. De waarden van plasma en erythrocyten werden in tabel 24 samengesteld.

De gemiddelde kaliumconcentratie in het plasma was door de corticosteroiden therapie significant lager dan bij de normale groep ($P = 0,01$) (M.C.), terwijl de procentuele kaliumopname in de eerste 3 uur 5,4 was, wat eveneens veel lager was dan normaal ($P = 0,0006$) (M.C.). De glycolyse was overeenkomstig verlaagd; 6,9 mg/100 ml/uur. Het natriumgehalte in het plasma was niet verschillend van de normale waarde, evenmin als het kaliumgehalte in de erythrocyten. De hoogste waarden hierin werden gevonden bij M. HODGKIN met 100 mg cortison per dag gedurende 4 weken, en aplastische anaemie met mogelijke haemolyse, waarbij 140 mg hydrocortison daags gedurende 3 weken was toegediend.

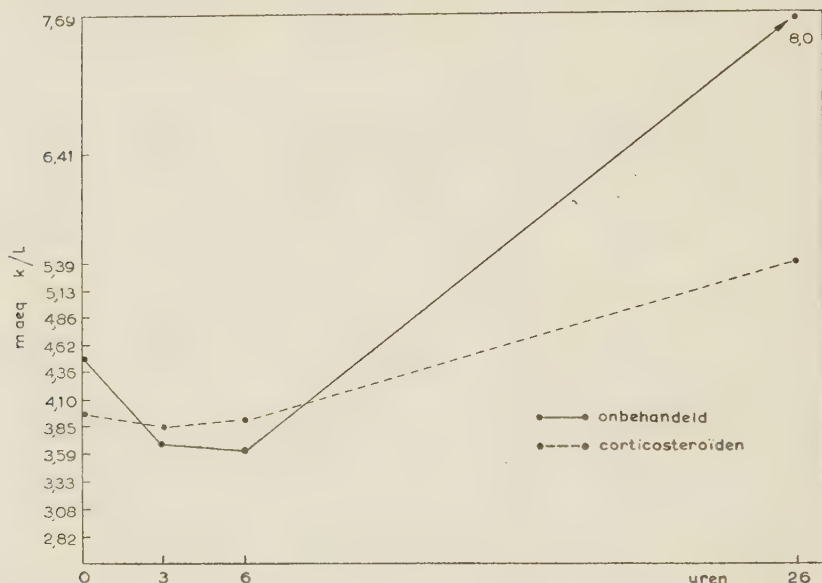
TABEL 24

Veranderingen in kalium- en natriumconcentraties in plasma en erythrocyten tijdens 26 uur incubatie. (12 patiënten met corticosteroïden therapie).

no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	gemiddeld
uur	plasma - kalium (m aeq/l)												
0	4,10	3,85	3,89	3,80	3,98	4,28	2,28	4,18	3,98	4,18	3,71	3,63	3,85
3	3,85	3,71	3,66	3,72	3,98	3,98	2,25	3,58	3,89	3,85	3,66	3,51	3,61
6	3,85	3,80	3,85	3,85	3,89	3,85	2,28	3,80	3,98	4,10	3,56	3,39	3,61
26	5,62	4,14	5,62	6,41	5,52	5,40	3,12	5,62	6,55	5,31	3,85	6,10	5,25
diagnose	sarcodosis	M.Hodg-kin	polyarth.rheumat.acuta	chron.nephritis	aplastische anaemie	M. Addison	ca. pulm.	sarcomapulm.	sarcoidosis	ca. pulm.	acute myel. leucaemie		
therapie	hydrocortison 75 mg	cortison 100 mg	cortison 75 mg	cortison 75 mg	hydrocortison 140 mg	cortison 20 mg	cortison 75 mg	cortison 75 mg	hydrocortison 100 mg	cortison 75 mg	diadrenson 30 mg	A.C.T.H. 24 E	
behandelingsduur	2 weken	4 weken	12 dagen	9 dagen	3 weken	5 mg enkele mnd	5 mnd	3 weken	18 dagen	9 mnd	5 dagen	13 dagen	
0	142,1	143,5	150,0	142,6	141,7	146,8	139,1	148,7	147,8	138,0	138,0	144,3	143,5
3	141,3	141,7	147,8	143,5	139,1	147,4	135,0	141,7	147,0	134,8	136,0	143,5	141,7
6	140,2	141,7	140,4	143,5	136,8	140,0	126,1	134,9	146,1	133,7	134,8	141,3	138,7
26	136,0	120,7	130,4	132,4	129,0	134,8	104,3	131,5	141,7	131,5	123,6	117,5	128,1
	erythrocyten - kalium (m aeq/l)												
0	—	106,6	97,5	88,2	108,6	101,7	102,5	98,3	90,3	138,0	138,0	144,3	97,49
3	—	106,9	97,7	88,5	109,1	102,2	102,9	99,2	91,3	134,8	136,0	143,5	97,95
6	—	106,9	97,6	88,6	108,7	102,4	102,9	99,2	90,4	133,7	134,8	141,3	98,05
26	—	105,7	94,9	85,9	103,5	100,6	101,4	97,4	90,1	131,5	123,6	117,5	95,46
	erythrocyten - natrium (m aeq/l)												
0	—	10,0	5,8	14,6	10,8	3,9	4,2	7,2	10,6	10,4	9,5	24,7	10,2
3	—	10,2	13,2	16,2	5,1	2,1	9,7	21,3	12,4	19,1	15,3	26,4	13,7
6	—	16,3	24,4	17,4	17,1	9,1	41,8	35,3	20,0	20,7	20,2	31,2	23,0
26	—	86,3	36,1	35,2	41,0	31,8	73,7	43,5	81,2	27,3	45,9	72,9	52,3

Bij de laatste patiënt kon het corticosteroïden-effect na 3 weken worden gedemonstreerd aan het verschil in kalium curven van het plasma (figuur 26 en tabel 25).

Hieruit blijkt, dat de hoge kaliumopname door de erythrocyten voor de therapie na de corticosteroïdentoeiening in korte tijd



Figuur 26. Veranderingen in kaliumconcentraties in plasma tijdens 26 uur incubatie. Invloed der corticoïdentherapie.

TABEL 25

Veranderingen in kalium en natriumconcentraties in plasma en erythrocyten door 3 weken corticosteroïden. Linker helft vóór, rechter ná de therapie.

Tijd ↓ uren	m aeq/liter							
	plasma		erythrocyten		plasma		erythrocyten	
	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na
0	4,50	141,3	104,0	8,3	3,98	141,7	108,6	10,8
3	3,71	143,5	104,6	5,1	3,85	139,1	109,1	5,1
6	3,62	143,5	105,1	1,7	3,89	136,7	108,7	17,1
26	8,01	131,5	96,3	21,8	5,40	130,6	103,5	41,0
Ht	25,5				22,2			
Ht 26 uur	27,0				26,1			
% K opname in 3 uur	17,6				3,3			
Kationstijging 26 uur			5,8				25,1	

sterk werd geremd. De kaliumconcentratie in de rode cellen bleek echter nog iets te zijn gestegen. De totale kationentoeename na 26 uur incubatie was na corticosteroïdentoeediening aanmerkelijk hoger zonder dat er een sterke volumetoeename was opgetreden. Duidelijk significant ($P = 0.015$) (M.C.) lager dan normaal was het gemiddelde natriumgehalte der erythrocyten van de 12 behandelde patiënten, terwijl de 26-urige incubatie duidelijk een versnelde natrium-opname naar de rode cellen liet zien (tabel 24).

Deze bedroeg 42,1 m aeq/l tegen 2 m aeq/l verlies van kalium. In liter celwater uitgedrukt bedroeg deze opname zelfs 54,2 m aeq/l; de hoogste gemiddelde opname van alle onderzochte groepen. Het gemiddelde celwater bedroeg 721 ml/l cellen, wat niet significant van de normale waarde van 716 ml/l afweek. Bij de normalen werd gemiddeld 29,4 m aeq kation/liter celwater in 26 uur opgenomen.

De procentuele opname van natrium en uittreding van kalium door de erythrocyten werd berekend tussen 6 en 26 uur, daar kon worden aangenomen, dat na 6 uur de energiebron, het plasma glucose, in de meeste gevallen grotendeels was uitgevallen en de actieve „pomp”-mechanismen daarmee dus uitgeschakeld.

In tabel 26 worden de gemiddelde opname en uittreding van natrium, resp. kalium door de erythrocyten bij verschillende ziekten samengesteld. Hieruit blijkt dat de procentuele natriumopname bij corticoïden therapie zeer hoog ligt, 126,7% tegen 83,5% normaal. De kaliumuittreding in dezelfde tijd blijkt echter betrekkelijk laag te zijn, 44,4% tegen 91,5% normaal. Dit moet noodzakelijkerwijs de reeds genoemde volumevermeerdering tot gevolg hebben, die 16,6% bedroeg. Deze vermeerdering werd slechts overtroffen door die bij M. ADDISON, (22,1% van de beginwaarde) waar de totale kationentoeename 77,5 m aeq/l celwater bedroeg.

Om na te gaan of bovengenoemde verschijnselen rechtsstreeks aan corticosteroïden-werking konden worden toegeschreven, werden 5 experimenten in vitro verricht, waarbij corticosteroïden aan geïncubeerd bloed werden toegevoegd. Hierbij bleek de remmende werking op kaliumopname en glycolyse duidelijk. De procentuele 3-uursopname voor kalium en glycolysesnelheid worden in tabel 27 vermeld.

Bij het laatste experiment werd getracht de remmende werking van 1,5 mg hydrocortison/100 ml met insuline 10 E/100 ml te couperen wat echter niet gelukte.

TABEL 26

Overzicht van uittrekking van kalium en opname van natrium van erythrocyten tussen 6 en 26 uur incubatie bij verschillende groepen.

ziekte	% K uittrekking 6 → 26 uur				% Natriumopname 6 → 26 uur						opname aan Kationen			
	plasma K (m aeq/l)		verschil m aeq/l		% uit-treking	erythrocyten Na (m aeq/l)		verschil m aeq/l		% opname	% opname		totale opname m aeq/l cellen	totale opname m aeq/l celwater
	6 uur	26 uur	6 uur	26 uur		0 uur	6 uur	6-26 uur	26 uur		0-6 uur	6-26 uur		
verhoogde insuline gevoeligheid	3,19	6,50	3,31	103,4		20,34	21,69	33,69	12,00		6,6	55,3	11,0	15,5
endoor. afw.	3,21	6,55	3,34	102,5		14,2	17,7	40,1	22,4		24,7	126,6	24,0	31,1
hepatitis	3,51	7,64	4,13	117,3		12,60	17,63	45,47	27,84		40,0	157,9	15,2	21,6
haemol. anemie	3,20	7,68	4,48	140,7		15,03	15,79	37,59	21,80		5,1	138,6	19,1	27,1
hyperthyreose	3,81	5,54	1,73	48,1		18,07	19,05	49,22	30,17		5,4	158,4	30,7	43,6
asthma herstel	3,61	6,41	2,80	76,2		18,6	14,4	31,7	17,3		0	120,2	10,7	14,7
maligne tumoren	3,85	6,87	3,02	78,1		23,18	22,98	58,54	35,56		0	146,1	34,2	47,4
normalen	3,53	6,80	3,27	91,5		16,48	21,78	39,98	18,19		32,2	83,5	14,92	29,4
lichte diabetes	3,81	5,25	1,44	38,3		19,81	22,81	42,36	19,55		15,1	85,9	18,11	29,0
asthma aanval	3,41	4,96	1,55	45,1		18,82	24,66	46,08	21,42		31,0	86,9	19,87	20,1
anaemie	3,97	6,46	2,49	62,0		9,76	15,84	46,77	30,93		62,3	195,4	2,4	2,9
ontregelde diab.	3,98	4,60	0,62	15,7		15,70	18,00	39,26	21,26		14,7	118,1	22,4	32,2
chron. nierziekten	4,33	7,06	2,73	61,9		12,58	16,43	43,05	26,62		30,6	162,1	15,5	21,7
corticosteroiden	3,62	5,26	1,64	44,4		10,18	23,05	52,26	29,21		126,4	126,7	39,2	54,2
levercirrhose	3,68	5,21	1,53	41,4		13,58	19,67	35,48	15,81		80,4	14,28	16,7	22,6
M. Addison	4,30	5,21	0,91	21,1		8,7	16,4	63,30	46,90		88,5	285,3	54,5	77,5
hypokalaemie	3,18	3,85	0,67	17,4		17,45	30,65	52,30	21,65		75,7	70,6	—	—

Doca bleek ook in grotere concentratie dan hydrocortison een veel zwakkere werking uit te oefenen.

TABEL 27

Invloed van hydrocortison en doca op kaliumopname en glycolyse van erythrocyten in vitro.

No	% K opname in 3 uur	glycolyse mg %/uur	% K opname in 3 uur	glycolyse mg %/uur	% K opname in 3 uur	glycolyse mg %/uur
1	nuchter		mg hydrocortison/100 ml			
	22,1	19	0,5		0,05	
2	nuchter		10,0		18,7	14
	19,4	17	5,5	7	10,3	8
3	nuchter		mg hydrocortison/100 ml		mg doca/100 ml	
	7,4	6	0,5		4,0	
4	nuchter		0		10,3	8
	2,5	11	3,3	2	1,6	4
5	nuchter		mg hydrocortison/100 ml		mg doca/100 ml	
	10,9	10	1,25	6	1,25	
5	nuchter		mg hydrocortison/100 ml		mg hydrocortison + insuline/100 ml	
			1,5		1,5	10 E
			1,3	5	1,6	4

Bovenstaande experimenten in vitro maken het wel zeer waarschijnlijk, dat de remmende werking van corticosteroiden op de koolhydraat- en kalium-natrium-stofwisseling in vitro door deze steroiden rechtsstreeks is uitgeoefend.

Samenvatting

De invloed, van corticosteroiden op het bloed van 12 patiënten werd onderzocht, zonder voorkeur voor een bepaalde ziekte. De gemiddelde kaliumconcentratie van het plasma was lager dan normaal, evenals de procentuele kaliumdaling van 5,4, wat de sterk geremde glycolyse van 6,9 mg/100 ml bloed/uur weerspiegelde. Het natriumgehalte der erythrocyten daalde onder corticosteroiden-toediening sterk en bedroeg 10,2 m aeq/l gemiddeld, terwijl incubatie (26 uur) een vergrote permeabiliteit voor natrium liet zien onder invloed der corticosteroiden. De passieve uitwisselings-snelheid voor kalium en natrium na verdwijnen van glucose werd

voor de verschillende groepen in tabel 26 bijeengebracht. De kalium-uittreding bleek onder invloed van corticosteroïden laag te zijn, in tegenstelling tot de natriumopname, zodat er een duidelijke volumetoename der rode cellen ontstond.

Het remmende effect der corticosteroïden werd ook in vitro in 5 experimenten zowel op de glycolyse als op de kaliumopname gedemonstreerd, waarbij bleek dat hydrocortison een veel sterkere werking uitoefende dan doca.

5. De electrolytenverschuivingen bij M. Addison

Hiervan werden 5 patiënten onderzocht. De gegevens vindt men in tabel 28.

Uit deze gegevens bleek een vrij grote spreiding van de kaliumconcentratie in het plasma, verband houdend met de klinische toestand van de patiënten op het tijdstip van onderzoek. Zo werd de eerste patiënte op het moment van bloedafname reeds behandeld met glucose-zout-infusen, waardoor waarschijnlijk de onverwacht lage kaliumconcentratie in het plasma werd gevonden. Ook het natriumgehalte lag laag. Wegens de slechte toestand kon niet voldoende bloed worden verkregen voor analyse der erythrocyten. Opvallend was de totaal afwezige kaliumopname door de erythrocyten met de lage glycolyse van 5,7 mg/100 ml/uur. Ook de passieve membraanpermeabiliteit, beoordeeld aan de kaliumuittreding tussen 6 en 26 uur, was zeer laag, 33,1% (normaal 91,5).

Ditzelfde gold voor alle 5 gevallen. De totale procentuele kaliumopname in 3 uur bedroeg 2,1, één der laagste waarden van alle onderzochte groepen, en slechts door die bij hypokaliaemische toestanden overtroffen. De gemiddelde glycolyse per 100/ml bloed per uur was 4,7, de laagst gevonden waarde van alle patiëntengroepen. Van de 4 wel onderzochte concentraties van kalium en natrium in de erythrocyten bleek in drie gevallen een zeer hoge waarde aan kalium te bestaan. De vierde patiënte was evenals de eerste in een zo slechte conditie, dat een zoutinfuus moest worden gegeven. Mogelijk hing de lage kaliumconcentratie van de erythrocyten bij deze patiënt met de ernstige toestand samen, wat zeker het geval was voor de natriumconcentratie in het plasma. De natriumconcentraties der erythrocyten lagen in alle onderzochte gevallen laag, in 2 zelfs zeer laag. Deze lage concentratie onder de 7 m aeq/l hebben wij echter bij vele ziekte toestanden gevonden.

TABEL 28 (M. ADDISON)

Veranderingen in kalium- en natriumgehalte van plasma en erythrocyten tijdens 26 uur incubatie.

plasma-kalium (m aeq/l).

No	1	2	3	4	5	gemidd.
tijd ↓ uren						
0	3,07	4,61	4,28	4,38	4,87	4,21
3	3,07	4,50	4,02	4,82	4,37	4,13
6	3,56	4,50	3,85	5,12	4,50	4,28
26	4,74	5,00	5,40	5,58	5,54	5,21
therapie	glucose- NaCl infuus	Doca 12 mg	Doca 10 mg	NaCl infuus cortison 25 mg	Doca 5 mg cortison 20 mg	
% K opname in 3 uur	0	2,8	7,5	0	10,0	2,1
% K uittreding 6-26 u	33,1	11,1	40,3	8,9	23,1	23

plasma-natrium (m aeq/l).

No	1	2	3	4	5	gemidd.
0	130,4	133,7	146,8	129,4	147,8	136,0
3	130,4	133,7	147,4	128,7	152,2	138,3
6	129,2	127,2	144,3	128,1	148,9	134,1
26	128,3	103,3	134,8	107,6	121,8	119,6

erythrocyten-kalium (m aeq/l).

No	1	2	3	4	5	gemidd.
0	—	107,1	101,7	83,3	104,1	99,1
3	—	107,5	102,2	82,7	104,7	99,3
6	—	107,7	102,4	83,3	105,1	99,6
26	—	107,5	100,6	83,4	104,5	99,0

erythrocyten-natrium (m aeq/l)

No	1	2	3	4	5	gemidd.
0	—	14,7	3,9	5,1	11,1	8,7
3	—	17,9	2,1	5,9	6,3	8,1
6	—	33,7	9,1	7,8	14,9	16,4
26	—	107,5	31,8	49,4	64,7	63,3
Ht	—	38,3	43,1	48,0	48,1	44,4
Ht 26 u	—	54,2	46,9	57,5	58,0	54,2

In tabel 29 hebben wij het verband nagegaan tussen natriumconcentraties in de erythrocyten en de procentuele kaliumopname in 3 uur. Om zeker te zijn van sterk hyponatriaemische waarden, hebben wij de patiënten gesplitst in 2 groepen: die met waarden onder en die met waarden boven de 7 m aeq/l. Een tweede splitsing van het materiaal werd verricht naar de procentuele kaliumopname in 3 uur onder en boven de 9.

TABEL 29

Verband tussen hyponatriaemie van erythrocyten en er bij behorende % kaliumopname in 3 uur.

	Ery. Na < 7		Ery. Na > 7		Ery. Na < 10		Ery. Na > 10	
	% K opname		% K opname		% K opname		% K opname	
	< 9	> 9	< 9	> 9	< 9	> 9	< 9	> 9
normalen	0	0	0	9	0	0	0	9
diabetes	2	0	3	7	2	0	3	7
levercirrhose	3	1	7	3	7	1	3	3
haemol. anaemie	0	0	0	8	0	2	0	6
maagbloeding	2	0	1	0	2	0	1	0
corticosteroiden	3	0	7	1	5	1	5	0
asthma	0	0	3	6	1	0	2	6
hepatitis inf.	0	1	0	6	0	2	0	5
verhoogde insuline gevoeligheid	0	0	2	7	0	0	2	7
M. ADDISON								
hypokaliaemie	2	0	1	1	2	0	1	1
maligne tumoren	1	0	1	0	1	0	1	0
nierziekten	1	0	5	6	1	2	5	4
hyperthyreose	3	0	2	1	3	0	2	1
	0	0	0	6	0	0	0	6
Totaal	17	2	32	61	25	8	25	55

Passen wij op de laatste regel van tabel 29 de methode der 2×2 — tabel toe (153c), dan blijkt er een duidelijke positieve correlatie te bestaan tussen het natriumgehalte in de erythrocyten en de procentuele kaliumopname ($P = 0,00001$). Na verruiming der hyponatriaemische bovengrens tot 10 m aeq/l erythrocyten werd eveneens een duidelijke positieve correlatie gevonden ($P = 0,00002$). Echter kon er voor het gehele patiëntenmateriaal eveneens een correlatie worden gevonden tussen het kaliumgehalte der erythrocyten op het uur 0 en de procentuele kaliumopname in 3 uur (tabel 30). Hierbij werd het patiëntenmateriaal gesplitst naar het kaliumge-

halte der erythrocyten, zodat een groep met een kaliumconcentratie boven de 100 m aeq/l rode cellen en één onder de 100 maeq/l werd verkregen.

TABEL 30

*Verband tussen kaliumgehalte > 100 m aeq/l cellen en er bij behorende
% kaliumopname in 3 uur.*

	Ery. K > 100		Ery. K < 100	
	% K opname		% K opname	
	< 9	> 9	< 9	> 9
normalen	0	0	0	9
diabetes	0	0	5	7
levercirrhose	2	0	8	4
haemol. anaemie	0	2	0	6
maagbloeding	3	0	0	0
corticosteroiden	4	0	6	1
asthma	0	0	3	6
hepatitis inf.	0	0	0	7
verhoogde insuline } gevoeligheid }	0	0	2	7
M. ADDISON	2	1	1	0
hypokaliaemie	2	0	0	0
maligne tumoren	4	3	2	3
nierziekten	1	0	4	1
hyperthyreose	0	0	0	6
Totaal	18	6	31	57

De 2×2 -tabel toegepast op de laatste regel van tabel 30 geeft een overschrijdingskans van 0,002. Deze correlatie is negatief. (M.C.)

Ook de invloed van hypokaliaemie op de kaliumopname en glycolyse der erythrocyten werd onderzocht. Er werden in totaal 5 patiënten gevonden met een kaliumconcentratie der erythrocyten kleiner dan 85 m aeq/l cellen (tabel 31).

Hieruit werd geen verband tussen het kaliumgehalte der erythrocyten en de procentuele kaliumopname gevonden.

Samenvattend bleken er dus 17 van de 19 patiënten met een natriumconcentratie onder de 7 m aeq/l cellen een gestoorde kaliumopname en glycolyse te hebben naast 18 van de 24 patiënten met een kaliumconcentratie boven de 100 m aeq/l.

Uit deze gegevens werd de mogelijkheid gesuggereerd van een

TABEL 31

Verhouding tussen kaliumgehalte < 85 m aeq/l cellen en er bij behorende % kaliumopname in 3 uur.

	Ery. K < 85 m aeq/l		Ery. K > 85 m aeq/l	
	% K opname		% K opname	
	< 9	> 9	< 9	> 9
normalen	0	0	0	9
diabetes mell.	0	1	5	6
levercirrhose	0	1	10	3
haemol. anaemie	0	0	0	8
maagbloeding	0	0	3	0
corticosteroiden	0	0	10	1
asthma bronch.	0	1	3	5
hepatitis inf.	0	0	0	7
verhoogde insuline gevoeligheid	}	0	2	6
M. ADDISON		1	0	1
hypokaliaemie	0	0	2	0
maligne tumoren	0	0	6	6
nierziekten	0	0	5	1
hyperthyreose	0	0	0	6
Totaal	1	4	48	59

beïnvloeding van de koolhydraat-stofwisseling der erythrocyten zowel door stoornissen in de kalium- als in de natriumconcentraties.

Terugkomend op de afwijkingen bij de groep der patiënten met M. ADDISON kon nog een ander verschijnsel worden opgemerkt, nl de sterke stijging in volume na 26 uur incubatie. Deze bedroeg gemiddeld 22,1% en was de hoogste waargenomen volumetoename. Ook procentueel tussen 6 en 26 uur gemeten bleek dit verreweg de hoogste waarde (tabel 26).

Moeilijk blijft het, de eventuele rol van corticosteroiden hierbij te beoordelen, daar ook bij de eerste patiënte, waar nog geen bijnierschorshormonen waren toegediend, de kaliumopname geheel uitbleef, terwijl de laatste patiënt tijdens het onderzoek der erythrocyten in een goede algemene conditie verkeerde.

6. Hypokaliaemie

Het bloed van 6 patiënten met hypokaliaemie kon worden onderzocht. Van 3 patiënten werd bloed afgenomen tijdens hevig braken,

de vierde patiënt, waarbij de hypokaliaemie onverwacht werd gevonden, verkeerde in een langdurige status asthmaticus; de 5de patiënt had een ernstige levercirrhose en werd reeds apart beschreven (tabel 17). De gegevens van de 6de patiënt, lijdende aan periodieke paralyse, zullen apart worden vermeld. De gemiddelde kaliumconcentratie in het plasma van de eerste 5 patiënten bedroeg 3,07 m aeq/l (tabel 32).

TABEL 32

Veranderingen in kalium- en natriumconcentraties (m aeq/l) in plasma en erythrocyten tijdens 26 uur incubatie (hypokaliaemie).

no		1	2	3	4	5	gemid- deld	
	{ tijd uur	0	3,51	3,51	3,05	2,28	2,78	3,07
		3	3,57	3,52	3,07	2,23	2,69	3,03
		6	3,58	3,57	3,38	2,29	2,74	3,18
		26	4,87	3,59	4,62	3,12	2,98	3,84
		levercirr. sarcoid.	stat. asthm.	intox. braken	postop. braken	ca. pulm. braken		
	% K opname	0	0	0	2,8	4,6	1,48	
	plasma Na	140,3	142,4	130,0	139,1	153,3	141,0	
	ery. K	104,0	—	—	102,5	104,0	103,5	
	ery. Na	6,2	—	—	4,2	30,7	13,7	
	ery. Na 26 u.	—	—	—	73,3	34,9	52,3	

Hoewel de aantallen zeer klein zijn, bleek toch duidelijk de sterk geremde kaliumopname van 1,48% in 3 uur, waarbij een gemiddelde glycolyse-snelheid van 5,6 mg/100ml bloed/uur werd gevonden. Ook de uittreiding van kalium uit de erythrocyten tussen 6 en 26 uur was zeer laag, nl 17,4%.

De natriumconcentratie in het plasma was slechts bij één patiënt duidelijk verlaagd, helaas ontbreken de erythrocytenwaarden hierbij. De kaliumconcentraties in de erythrocyten waren in alle onderzochte gevallen duidelijk verhoogd, het aantal is echter te klein om enige conclusie te wettigen. Ditzelfde geldt voor de natriumwaarden waarbij bovendien een grote spreiding bestond.

De enige gegevens, die de kleine groep der hypokaliaemiepatiënten ons uiteindelijk verschaften, waren die van een sterk geremde uitwisseling van kalium-ionen, gepaard gaande met een gestoorde glycolyse. Dat ook hier een verhoogde bijnierschors-

TABEL 33

Veranderingen in kalium-, natrium- en glucoseconcentraties in plasma en erythrocyten tijdens 26 uur incubatie.
Invloed van acetylcholine en prostigmine op kaliumuitwisseling en glycolyse.

PLASMA

	aanval						herstel		vrije periode					
	1		2		3		4		5		6		7	
	acetylcholine 1 mg/ml				prostigmine 1/240 mg/ml						acetylcholine 1 mg/ml		prostigmine 1/240 mg/ml	
	m aeq/l	mg/ 100 ml	m aeq/l	mg/ 100 ml	m aeq/l	mg/ 100 ml	m aeq/l	mg/ 100 ml	m aeq/l	mg/ 100 ml	m aeq/l	mg/ 100 ml	m aeq/l	mg/ 100 ml
uur	K	Na	K	glucose	K	glucose	K	Na	K	Na	K	glucose	K	glucose
	3,56	154,4	3,56	106	3,56	106	4,67	142,6	4,56	144,3	4,56	92	4,56	92
0	3,18	154,0	3,18	75	3,18	71	4,50	143,0	4,33	144,3	4,18	63	4,54	49
2	2,90	153,3	2,90	53	2,90	53	4,38	143,7	4,28	144,3	3,90	55	4,55	38
3	—	—	—	—	—	—	4,23	143,7	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	2,86	152,7	3,21	46	3,08	31	—	—	—	—	—	—	—	—
6	2,97	152,4	3,46	34	3,12	15	4,44	143,6	4,18	145,4	4,44	36	4,56	15
9	3,66	152,4	—	11	3,98	10	—	—	—	—	—	—	—	—
26	6,79	152,0	10,0	—	8,59	—	7,71	142,5	7,15	144,0	9,49	11	9,04	12
% K opname in 3 uur glycolyse	18,3		18,3	18	18,3	18	6,2		6,1		14,5	12	0,2	18

ERYTHROCYTEN

uur	0		26		29-1-1959		1-2-1959		14-2-1959	
	K	Na	K	glucose	K	glucose	K	glucose	K	glucose
0	70,5	17,4	76,4	25,7	101,1	10,2	76,4	25,7	101,1	10,2
26	65,4	49,5	73,3	44,8	98,7	36,9	73,3	44,8	98,7	36,9
Haematocriet 0 uur	45,7		44,2		42,5		44,2		42,5	
Haematocriet 26 uur	54,9		50,4		50,6		50,4		50,6	
Volume toename %	20,1		14,1		19,2		14,1		19,2	
Kation toename										
m aeq/l	27,0		16,0		24,3		16,0		24,3	
Kation toename %	30,8		15,6		21,9		15,6		21,9	
datum										

activiteit in het spel kan zijn, is in de laatste 4 gevallen zeker aan-
nemelijk.

De hypokaliaemie tijdens aanvallen van *periodieke paralyse* werd
apart beschouwd.

Wij waren in de gelegenheid de erythrocyten van de door BIEMOND
en POLAK DANIELS [163] in 1934 beschreven patiënt, lijdende aan
periodieke paralyse, in een periode van tamelijk frequente aanvallen
tijdens en buiten een aanval te analyseren¹. De gegevens vindt
men in tabel 33 en figuur 27.

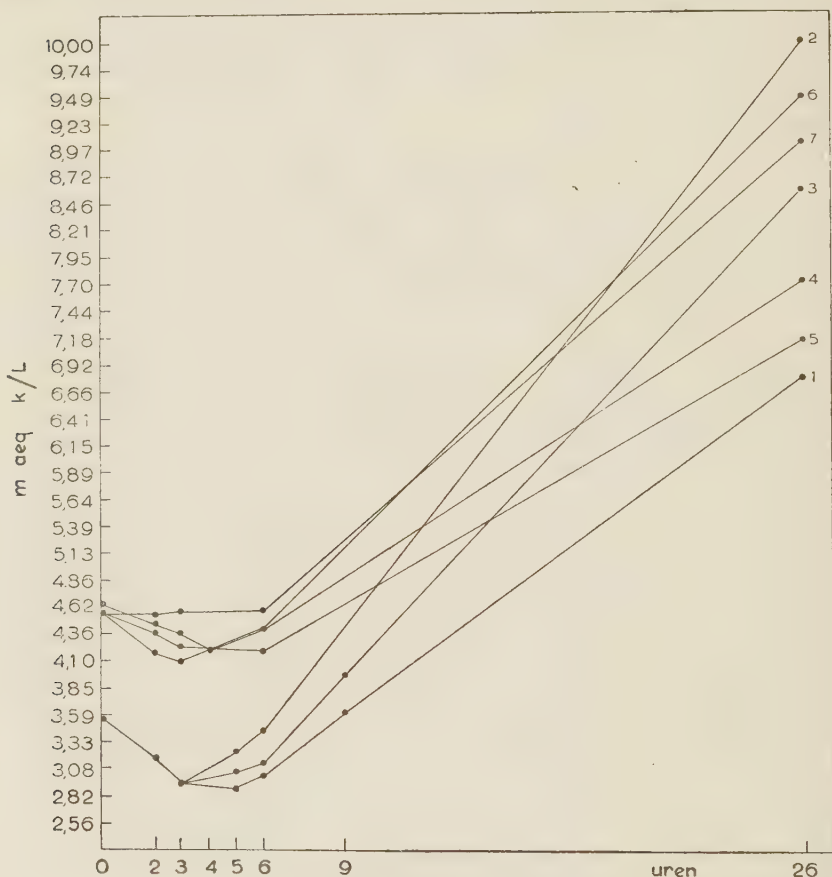
Het bloed van de patiënt werd de eerste maal onderzocht tijdens
een aanval van matige intensiteit, met een kaliumconcentratie
in het plasma van 3,56 m aeq/l, 5 uur na het begin van de aanval,
waarbij patiënt armen en benen met enige moeite kon bewegen,
de tweede maal 3 dagen later (herstelperiode) en de derde maal
2 weken later, waarbij zich in die periode geen aanvallen meer
hadden voorgedaan. De natriumconcentratie in het plasma was
tijdens de aanval sterk gestegen tot 154,4 m aeq/l en was in de rust-
periode weer normaal. Waarschijnlijk bestond er tijdens de aanval
ook een lichte bloedindikking (door wateronttrekking naar de
spieren), daar de haematocrietwaarde tijdens de aanval duidelijk
hoger lag dan er na, en hierop geleidelijk daalde. In de literatuur
is deze wateropname naar despiers herhaaldelijk beschreven [164].

De kationenconcentraties in de erythrocyten gaven eveneens een
beeld van de tijdelijke electrolyten-verschuivingen. Tijdens de
aanval bleek er een sterk verlaagde concentratie aan kalium in de
erythrocyten te bestaan van 70,5 m aeq/l, de laagste waarde van
alle onderzochte gevallen, die tijdens de herstelfase steeg tot 76,4
maeq, om meer dan 100 m aeq/l te bedragen 16 dagen na de aanval,
een verschil van 30,6 m aeq/l cellen! Ook het natriumgehalte in de
rode cellen was aan grote schommelingen onderhevig en gaf een
tijdelijke hypernatriaemie te zien tijdens het herstel.

De lage kaliumconcentratie in de erythrocyten tijdens de aanval
zou kunnen wijzen op afgifte hiervan naar andere plaatsen in het
lichaam (spieren). ZIERLER [165] berekende dat tijdens deze aan-
vallen bepaalde niet verder gelocaliseerde gedeelten in het lichaam
veel kalium moesten afstaan, daar in de spieren in dezelfde periode

¹ Voor de mogelijkheid deze patient te onderzoeken zijn wij Prof. Dr W. C. SILLEVIS
SMITT onze dank verschuldigd.

grote hoeveelheden hiervan werden opgenomen. Deze hoeveelheid was bij één der aanvallen naar zijn berekening 12 maal zo groot als uit plasma en extracellulaire vloeistof was verdwenen, wat een verschil van ongeveer 100 m aeq betekende. Tegelijk met deze versterkte kaliumopname werd door ZIERLER een verhoogd kool-



Figuur 27. Veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l) tijdens 26 uur incubatie. (Periodieke Paralyse). Voor nummering zie tabel 33.

hydraatverbruik door de spieren opgemerkt. Het zou niet onmogelijk zijn dat dit kalium voor een groot deel uit de erythrocyten afkomstig was, daar bij de door ons waargenomen aanval in totaal ongeveer 75 m aeq kalium uit de erythrocyten verdween. Een zo grote en snelle kaliumuittreding uit de erythrocyten moet echter op

een totaal veranderde membraanpermeabiliteit hiervan berusten, daar normaal in 26 uur (in vitro) maar enkele m aeq kalium/l uit de erythrocyten verdwijnen. Mogelijk hing hiermee het afwijkende gedrag van de erythrocyten bij de periodieke paralyse samen, zoals in vitro bleek. Uit de kaliumveranderingen in het plasma tijdens de incubatie der erythrocyten bleek dat de rode cellen tijdens de aanval een sterke neiging vertoonden om kalium uit het plasma op te nemen (18,3% in 3 uur), een neiging die tijdens het herstel en in de aanval vrije periode tot 6,2 resp. 6,1% daalde. De glycolyse daarentegen was tijdens de aanval zowel als er na normaal, resp. 13 tegen 11 en 12 mg/100 ml/uur. De erythrocyten gedroegen zich tijdens de aanval schijnbaar anders dan de spiercellen, daar zij kalium verloren. De neiging tot opname van kalium was echter groot, zodat het ons niet onmogelijk lijkt dat bij een gelijksoortige tendens tot kaliumopname in het (gehele) lichaam tijdens de aanvallen, de weefselcellen met lagere opname neiging (erythrocyten) hun kalium ten gunste van die met grote opname capaciteit moeten afstaan.

Na 26 uur incubatie vertoonden de tijdens de aanval afgenomen erythrocyten een grote toename aan kationconcentratie van 30,8% der beginwaarde, wat op een grote permeabiliteit van de erythrocytenmembraan wees. Deze permeabiliteit was aanmerkelijk lager in de herstelfase (14 tegen 20% volume toename en 15,6 tegen 30,8% kation toename) en steeg weer in de vrije periode. Ze wekte de indruk een afspiegeling te zijn van de verandering in permeabiliteit van de spiermembranen, zoals deze tijdens de aanvallen manifest worden. Hoe dergelijke permeabiliteitsveranderingen tot stand komen, wordt door tal van electro-fysiologen intens bestudeerd (zie FLECKENSTEIN [166]). Zeer waarschijnlijk speelt hierin het acetylcholine-cholinesterase systeem een belangrijke rol.

Om een indruk te krijgen of het acetylcholine-cholinesterase systeem van de erythrocytenmembraan tijdens de aanval misschien een veranderde activiteit kon vertonen, werd aan een gedeelte van het, tijdens de aanval en de vrije periode verkregen bloed, acetylcholine (1 mg/ml) en prostigmine (1/240 mg/ml) eindconcentratie toegevoegd, met het doel de permeabiliteit der erythrocytenmembraan te beïnvloeden. Zoals bekend, verhoogt acetylcholine de permeabiliteit voor kalium en natrium, terwijl prostigmine het cholinesterase-systeem remt, dat als functie heeft de acetylcholine-concentratie te verlagen.

Uit tabel 33 blijkt dat tijdens de aanval noch acetylcholine, noch

prostigmine enige invloed hadden op de actieve kaliumopname, hoewel de glycolyse door beide pharmaca aanmerkelijk werd versneld (18 tegen 13 mg/100 ml bloed/uur). In tegenstelling hiermee werd de veel lagere actieve kaliumopname van 6,1% tijdens de vrije periode, door acetylcholine tot 14,5% versneld, door prostigmine daarentegen praktisch geheel geremd, terwijl de glycolyse in beide gevallen wederom tot 18 mg/100 ml/uur werd vergroot, zodat dezelfde glycolysesnelheid werd verkregen als tijdens de aanval. Het toegediende acetylcholine bleek dus de vergrote kaliumopname, die de erythrocyten tijdens de aanval bezaten, in vitro te kunnen nabootsen, zodat het niet onmogelijk is, dat ook de verhoogde permeabiliteit der spiermembranen tijdens de aanval op een verandering in acetylcholineconcentratie berustte. Krachtige remming van het cholinesterase door prostigmine bleek de permeabiliteit voor kalium slechts tijdens de vrije periode te kunnen beïnvloeden, wat eveneens op een verschil van het acetylcholine-cholinesterase-systeem der erythrocytenmembraan tussen aanval en vrije periode wees. Volgens TAYLOR [167] zou remming van cholinesterase bij normale erythrocyten in vitro een verminderde kaliumopname naar de rode cellen veroorzaken, remming van choline-acetylase en dus van acetylcholine-aanmaak daarentegen een verhoogde kaliumuittreding geven. Het bloed bij de patiënt met periodieke paralyse week hier van af, daar acetylcholine juist een verhoogde opname veroorzaakte. Normaal geeft acetylcholine een kaliumuittreding ook uit de spieren [166], wat met spiercontracties gepaard gaat. Wij kwamen in de literatuur geen gegevens over het acetylcholine-cholinesterase systeem bij de periodieke paralyse tegen.

7. *Hepatitis infectiosa*

Daar bij het onderzoek van bloed bij levercirrhose een duidelijke en constante functievermindering der erythrocyten gevonden was wat hun electrolyten- en koolhydraat-stofwisseling betrof, kwam de vraag op, hoe deze bij andere leveraandoeningen zou zijn, met name bij acute leverontstekingen. Hiervoor werden 7 gevallen van hepatitis infectiosa geanalyseerd.

Er viel hierbij op, dat de nuchtere plasma-concentratie van kalium in alle gevallen aan de hoge kant was, variërend van 4,14 tot 4,67 m aeq/l, gemiddeld 4,43 m aeq/l. Hiernaast bleek de procentuele kaliumopname van 17,0 significant van de normale waarde af te wijken ($P < 0,01$)* terwijl deze zich ook na 6 uur voortzette.

Op dat tijdstip was de procentuele opname 20,1. De hieraan ten grondslag liggende glycolyse was gemiddeld 17,3 mg/100 ml/uur. De passieve uittreding van kalium uit de cellen was normaal; na 26 uur werd gemiddeld 7,64 m aeq/l gevonden. Het natrium in het plasma en de intracellulaire kalium- en natriumconcentraties vertoonden geen afwijkingen van de normale waarden. Als bijzonderheid mag worden vermeld, dat in bloed van verscheidene hepatitis-patiënten na 26 uur-incubatie haemolyse was ontstaan, zodat deze gevallen moesten worden geëlimineerd. Bij een enkele van hen werd een positieve directe Coomb's test gevonden; dit was echter geen regel. De groep der hepatitis-patiënten was de enige, waarbij deze haemolyse herhaaldelijk voorkwam.

8. Hyperthyreose

Daar de schildklier een centrale functie heeft bij de regulering der koolhydraatstofwisseling, lag het voor de hand de electrolyten- en koolhydraatstofwisseling der erythrocyten bij schildklierstoornissen te onderzoeken. Voor dit doel werd het bloed onderzocht van 6 patiënten met hyperthyreotische verschijnselen van verschillende intensiteit. Hoewel glycolyse en kaliumopname verhoogd waren, bleek er geen duidelijk verband te bestaan tussen de ernst der hyperthyreose en de hoogte der kaliumopname. De hoogste kaliumopname, 28,2% werd gevonden bij een patiënt met een basale stofwisseling van + 64%.

							gem.
% K opname 3 uur	16,3	13,4	15,4	15,8	14,7	22,8	16,4
% K opname 6 uur	17,4	13,4	17,5	20,8	16,1	28,2	18,9
B.M. %	+19,5	+22	+30	+48	+51	+64	
Cholest. %	1,76	1,60	1,57	1,34	1,51	1,71	

Evenals bij hepatitis vertoonden de erythrocyten de neiging kalium ook tussen 3 en 6 uur te blijven opnemen. De passieve kaliumuittreding uit de erythrocyten door ontbreken van energie was echter laag. De gemiddelde kaliumconcentraties in het plasma na 0,3, 6 en 26 uur bedroegen 4,60-, 3,90-, 3,81-, 5,58 m aeq/l. Op 0-, 3-, 6-uren hoger dan normaal, $P = 0,001$ -, $0,012$ -, $0,004$), op 26 uur lager dan normaal ($P = 0,001$) (M.C.). De erythrocyten hadden een laag normale concentratie aan kalium van 91,2 m aeq/l

cellen, terwijl er een aanwijzing bestond, dat het natriumgehalte van 18,1 m aeq/l hoger lag dan normaal ($P = 0,058$) (M.C.), wat overeenkomt met de bevindingen van BOEKELMAN [64]. Bij enkele der onderzochte gevallen bleek het natriumgehalte der erythrocyten de eerste uren sterk te dalen, bij één geval zelfs van 27,3 tot 10,9 m aeq/l. Daar BOEKELMAN een relatie tussen een verhoogd natriumgehalte van erythrocyten en verhoogde stofwisseling waarschijnlijk achtte, gingen wij in tabel 34 na of bij onze patiënten eveneens een dergelijke tendens bestond en of er een globaal verband kon worden gevonden tussen een verhoogd natriumgehalte in de erythrocyten en een veranderde (verhoogde) koolhydraat- en electrolyten-stofwisseling.

In tabel 34 werden de patiënten gesplitst naar het natriumgehalte der erythrocyten boven en beneden de 20 m aeq/l en naar de procentuele kaliumopname in 3 uur, boven en beneden de 9. In totaal bleken 32 van de 112 patiënten een natriumgehalte groter dan 20 m aeq/l te hebben (28,6%).

Het hoogste aantal kwam voor bij de groep patiënten met een verhoogde gevoeligheid voor insuline (67%), gevolgd door asthma bronchiale, (50%). Ook de patiënten met hyperthyreose, diabetes mellitus en maligne tumoren vertoonden in een betrekkelijk hoog aantal een verhoogd natriumgehalte in de erythrocyten. De patiënten met klinische oedemen (corticosteroïden-therapie en levercirrhose) behoorden juist procentueel tot de laagste groepen.

Toepassing van de methode der 2×2 tabel op de onderste regel van tabel 34 geeft een overschrijdingskans van 0,1 (M.C.). Uit tabel 34 werd dus geen verband gevonden tussen het natriumgehalte der erythrocyten en de procentuele kaliumopname in de eerste 3 uur. Het lijkt ons niet aannemelijk, het verhoogde natriumgehalte in de erythrocyten zonder meer te beschouwen als gevolg van verhoogde productie aan bijnierschors-hormonen, met name aldosteron, zoals door D'AMICO [63] werd verondersteld. Waarschijnlijk spelen vele factoren samen bij het bepalen der intracellulaire electrolytenconcentraties, factoren die wij nog niet of slechts ternauwernood hebben leren kennen.

9. Onderzoek bij patiënten met verhoogde gevoeligheid voor insuline

Van de erythrocyten van deze heterogene groep van 9 patiënten, werd de kalium-, natrium-, en koolhydraatstofwisseling nagegaan, nadat met de insuline-tolerantie-test een verhoogde gevoeligheid

TABEL 34

Verhouding tussen natriumgehalte van erythrocyten groter dan 20 m aeq/l erythrocyten en er bij behorende procentuale kaliumpname in 3 uur.

	Ery Na > 20 m aeq/l			Totaal aantal	Ery Na < 20 m aeq/l		% K opname door de erythrocyten							Ery Na > 20 m aeq/l
	% K opname				% K opname									
	< 9	> 9	> 9		< 9	> 9	> 9	no 1	2	3	4	5	6	% van totaal
normalen	0	1	1	9	0	8	15,6	15,6	9,4	11,6	0	15,6		11
diabetes mell.	1	4	3	12	4	3	9,3	9,3						42
levercirrhose	1	2	2	14	9	2	11,9	11,9	11,5	4,5				21
haemol. anaemie	0	1	7	8	0	7	19,1							12
maagbloeding	0	0	0	3	3	0								—
corticosteroiden	1	0	1	11	9	1	3,5	3,5						9
asthma bronch.	1	4	2	9	2	2	17,5	17,5	18,0	7,3	7,2	19,7		56
hepatitis inf.	0	1	6	7	0	6	20,0	20,0						14
verhoogde insuline gevoeligheid	1	5	2	9	1	2	13,1	13,1	22,5	11,9	10,6	20,3	6,0	67
M. Addison	0	0	1	4	3	1								—
hypokaliemie	1	0	0	2	1	0	4,6	4,6						—
maligne tumoren	3	1	5	12	3	5	3,3	3,3	14,5	9,1	17,8			33
nierziekten	1	1	0	6	4	0	2,4	2,4	12,9					33
hyperthyreose	0	2	4	6	0	4								33
Totaal	10	22	41	112	39	41								26,5

voor insuline was gevonden met ernstige hypoglycaemische reacties, waarbij de gemiddelde plasmasuiker 35 mg% bedroeg. Klinisch waren het allen patiënten met vage asthene klachten, waarbij geen duidelijk omschreven diagnose kon worden gesteld.

De gemiddelde kaliumconcentraties in het plasma bedroegen op de uren 0-, 3-, 6- en 26 resp. 4,20-, 3,58-, 3,18- en 6,50; alleen de waarde na 6 uur, was significant lager dan normaal ($P = 0,0023$.) (M.C.) De procentuele kaliumopname na 3 uur van 15,2 was iets verhoogd, na 6 uur echter aanmerkelijk hoger dan normaal, nl. 23,9 ($P < 0,001$),* zodat ook hier de reeds bij diabetes mellitus, haemolytische anaemie, hepatitis en hyperthyreose vastgestelde tendens tot verdere kaliumopname na 3 uur incubatie werd teruggevonden. De hierbij behorende glycolyse bedroeg gemiddeld 20,1 mg/100 ml/uur in de eerste 3 uur. Bij deze groep met verhoogde gevoeligheid voor insuline was de voortgezette kaliumopname opmerkelijk hoog. Waarschijnlijk hing de lage kaliumconcentratie in het plasma na 26 uur hiermee samen. De kaliumuittreding tussen 6 en 26 uur van 103,4% lag weliswaar hoger dan normaal (tabel 26), de eind concentratie bleef echter lager dan normaal wegens de zeer lage waarde na 6 uur incubatie.

De gemiddelde natriumconcentratie in het plasma was geheel normaal. Er bestond een aanwijzing dat het kaliumgehalte der erythrocyten van 90,1 m aeq/l verlaagd was ($P = 0,056$); (M.C.) terwijl het natriumgehalte te hoog was, 20,34 m aeq/l ($P = 0,046$); (M.C.) met uitersten van 10,2 tot 34,8 m aeq/l. Van 9 patiënten waren er 6, d.i. 67%, met een natriumgehalte van de erythrocyten boven de 20 m aeq/l (tabel 34). Merkwaardig was, dat hierbij de passieve opname van natrium naar de erythrocyten van 55,3% het laagste was van alle onderzochte groepen (tabel 26), terwijl de uittreding van kalium (103,4%) daarentegen zeer hoog was. Zo was de totale toename van kationen op twee na de laagste.

Op welke wijze de klinisch vastgestelde verhoogde insulinegevoeligheid samen moet hangen met de gevonden afwijkingen, is moeilijk te beoordelen. Mogelijk weerspiegelden de erythrocyten met hun diepe, langdurige kaliumopname van maximaal 24% en de hieraan ten grondslag liggende glycolyse van 20 mg glucose/100 ml bloed per uur een soortgelijke tendens van het gehele lichaam.

10. *Asthma bronchiale*

De groep der patiënten met asthma bronchiale werd onderzocht tijdens een aanval en in een deel der gevallen in de hieropvolgende herstelfase, 4 dagen na het einde van de aanval, nadat gebleken was, dat het kaliumgehalte van het plasma van een asthmalijder tijdens een aanval duidelijk was verlaagd. Het gemiddelde bij 6 patiënten tijdens een aanval, varierend van 4 tot 48 uur na het begin hiervan, was 3,85 m aeq/l, wat lager is dan normaal ($P = 0,013$) (M.C.). Op de uren 3-, 6- en 26 waren de plasmaconcentraties resp. 3,41-, 3,41- en 5,0 m aeq/l. De procentuele kaliumopname van 11,2 week niet van de normale waarde af. Ook de kalium- en natriumconcentraties in de erythrocyten waren normaal. Wel bleek bij de (ernstiger) langer durende aanvallen een slechtere kaliumopname te bestaan dan bij de lichte vormen, wat uit onderstaande gegevens blijkt.

% K opname	18,0	17,5	16,1	7,4	4,8	0
duur van de aanval	4 u	10 u	12 u	24 u	48 u	48 u

In tegenstelling tot de lage kaliumconcentraties tijdens de aanval, lagen die tijdens het er opvolgende herstelstadium hoger dan normaal, met gemiddeld 4,34 m aeq/l plasma ($P = 0,004$) (M.C.). Het verschil tussen kaliumconcentraties in aanval en rust is significant ($P = 0,005$) (M.C.).

ALERS [168] vond een kleine verhoging van de kaliumconcentraties van het serum van asthmatici vergeleken met normalen. Daar hij echter een grote spreiding vond, ook naar de hypokaliaemische kant (4,2–7,3 m aeq/l, gemiddeld 5,6 m aeq/l), is het waarschijnlijk, dat zijn gegevens ongeselecteerd verkregen werden van patiënten in rust zowel als tijdens een aanval.

Het lijkt ons niet onmogelijk, dat het verschil in kaliumconcentratie tijdens rust en aanval veroorzaakt werd door een verhoogde bijnierschorsactiviteit tijdens de aanval, en een hierop verlaagde werking tijdens het herstel. Dat hierbij echter vele factoren een rol spelen, werd o.a. door PELSER beschreven [169].

Opvallend was het verschil in kaliumopname door de erythrocyten na 6 uur incubatie. Deze bedroeg tijdens de aanval 11,2%, tijdens het herstel stadium 17,0%. De laatste curve kreeg de reeds eerder vermelde vorm der verlengde kaliumopname.

Ook de passieve membraanfuncties (tabel 26) tussen 6 en 26 uur incubatie gaven een verschil aan tussen asthmatische aanval en herstel. Hierbij waren zowel de kalium- als de natriumuitwisseling groter tijdens de herstelfase. Een bijzonderheid was het feit dat de uittreding van kalium uit de erythrocyten bij 4°C, die bij alle ziekten lager was dan tijdens incubatie bij 37°C, alleen bij de asthmatische patiënten hoger was dan bij 37°C.

11. Nierziekten

Daar bij chronische nierziekten vaak een anaemie wordt gevonden, werd nagegaan of mogelijk stofwisselingsstoornissen in de erythrocyten hierbij van invloed konden zijn. In totaal werd het bloed van 7 min of meer ernstige chronische nephritis-patiënten onderzocht, die allen een thiosulfaat-clearance onder de 50% hadden en een ureumgehalte varierend van 57 tot 330 mg/100 ml. Hierbij viel op, dat het kaliumgehalte in het plasma hoger lag dan normaal; 4,60 m aeq/l ($P = 0,048$) (M.C.), terwijl de procentuele kaliumopname sterk verlaagd was: 2,8% na 3, ($P = 0,003$) (M.C.) en 5,5% na 6 uur. De kaliumconcentraties in het plasma bedroegen op de uren 0-, 3-, 6- en 26 resp. 4,60-, 4,50-, 4,34- en 7,05 m aeq/l. De waarde na 26 uur was even hoog als normaal. De glycolyse was licht verlaagd, 9,2 mg/100 ml bloed/uur. De natriumconcentraties in het plasma en de kalium en natriumconcentraties in de erythrocyten vertoonden geen meetbare stoornissen.

De passieve membraanfunctie, gemeten aan de uitwisseling van kalium en natrium na 6 uur, (tabel 26) was geremd voor kalium- (61,9% uittreding) en verdubbeld voor natrium-ionen (162,1% opname).

Daar er voor de vaak hardnekkige anaemieën bij chronische nierziekten nog geen bevredigende behandeling bekend is, lijkt ons de publicatie van REES belangrijk [135], die biochemische afwijkingen waarnam bij erythrocyten van uraemische patiënten. Toediening van inosine in vitro en in vivo gaf in korte tijd een duidelijke verbetering der erythrocytenstofwisseling en samenstelling van electrolyten. Dit maakt waarschijnlijk, dat de stoornis in de glycolyse gelegen is in het glucokinase-systeem of het begin der Dickens-shunt. Het lijkt ons zeer goed mogelijk, dat toediening van inosine bij uraemie in vele gevallen de anaemie zal kunnen opheffen of verbeteren.

Een andere verklaring van deze anaemieën zou kunnen liggen

in een verminderde productie van erythropoïetische factoren, die mogelijk in de normale nier worden gevormd [170] en die misschien ook met de polyglobulie bij niertumoren in verband zouden kunnen staan [171].

12. Maligne tumoren

Van 12 patiënten met maligne tumoren werden de electrolyten- en koolhydraatstofwisseling nagegaan. Hieronder waren 5 patiënten met longcarcinoom, 3 met lymphosarcomen, één met botsarcoom, één met M. HODGKIN, één met een rectum carcinoom en één met een pancreas carcinoom. De electrolyten-veranderingen in het plasma van de gehele groep met een procentuele kaliumopname van 11,4 waren niet verschillend van de normalen, evenmin de gemiddelde glycolyse van 16,0 mg/100 ml bloed/uur.

Het viel op, dat de kaliumconcentratie van de erythrocyten in een groot aantal gevallen hoger lag dan normaal, gemiddeld 100,4 m aeq/l cellen, met uitersten van 91,8 en 106,6 m aeq, verdeeld over 7 patiënten, d.w.z. bijna 30% van alle gevonden gevallen van intracellulaire hyperkaliaemie (tabel 30). Deze verhoogde concentratie is significant *. ($0,001 < P < 0,01$). Ook de groep der 7 carcinoom patiënten had een te hoog intracellulair kalium (99,5 m aeq/l). Van de 7 patiënten met concentraties boven de 100 m aeq/l leden er 4 aan carcinoom. Merkwaardig was het feit, dat van de 7 patiënten met te hoog intracellulair kalium er 6 een verlaagde procentuele kaliumopname vertoonden.

Het natriumgehalte der erythrocyten was niet afwijkend. Wel bleek de totale toename aan kationen na 26 uur zeer hoog te zijn, 47,4 m aeq/l celwater (tabel 26), — een van de hoogste gevonden cijfers — wat door een sterke toename van natrium naar de erythrocyten werd veroorzaakt. Hiermee correspondeerde ook de toename der haematocrietwaarde van 7,9%.

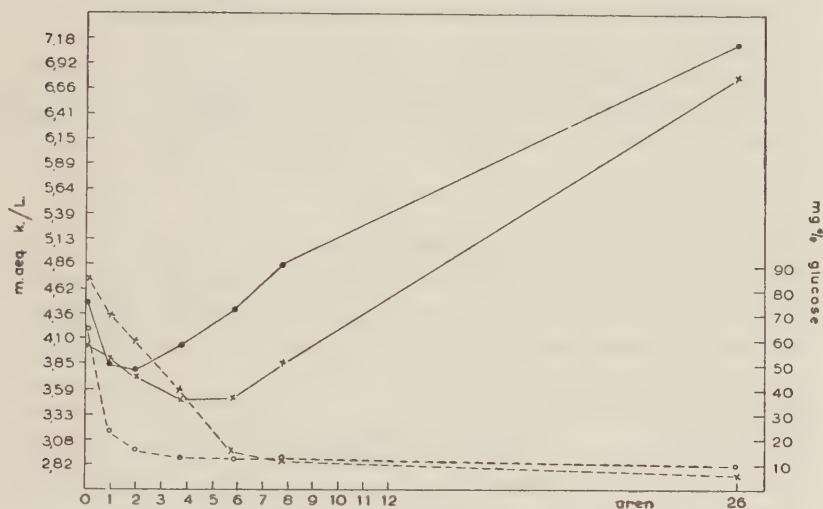
Verhoogd intracellulair kaliumgehalte en er bij behorende procentuele opname van kalium bij 7 patiënten met maligne tumoren.

Diagnose	lympho- sarcoom	M. Hodgkin	lympho- sarcoom	Ca. pulm.	Ca. pulm.	Ca. pulm.	Ca. pancreat.
m aeq K/l	105,6	106,6	100,5	101,5	106,4	101,8	104,1
% K opname in 3 uur	17,5	3,3	3,3	4,5	9,1	2,8	10,5

13. *Verskillende endocrine afwijkingen.*

Als laatste groep werden enige patiënten met verschillende endocrine en stofwisselingsstoornissen onderzocht. Deze omvatten 3 gevallen van alopecia totalis, 2 van dystrophia musculorum progressiva, 2 gevallen van hypogonadisme, één geval van spieratrofie e.c.i. en één operatief bevestigd insulinoom. De gevallen van spieratrofie en dystrofie waren speciaal interessant, daar het op grond van publicaties van GROEN [172] waarschijnlijk was, dat in dergelijke gevallen kaliumopname naar de spieren onder invloed van insuline lager zou zijn dan normaal. Hierbij ging het echter om alcoholische polyneuritis met ernstige spieratrofie. Daar wij tijdens onderzoeken met de insuline tolerantie test bij onze patiënten een sterke kaliumdaling in het plasma zagen van gemiddeld 4,24 tot 3,28 m aeq/l (22,7%), onderzochten wij de mogelijkheid of een gedeelte van dit kalium naar de erythrocyten zou kunnen zijn getransporteerd. Dit was echter slechts bij 2 der patiënten aantoonbaar. Het kaliumgehalte van de erythrocyten bedroeg in deze gevallen 95,8 en 98,5 m aeq/l, na insuline 99,8 resp. 102,4 m aeq/l, wat significant hoger was, ($P = 0,02$).^{*} Hier tegenover werd bij 2 der 3 patiënten met in korte tijd ontstane totale haaruitval een daling van het kaliumgehalte uit de erythrocyten na insuline-toediening, van 93,3 tot 90,5 en van 96,9 tot 93,3 m aeq/l gevonden. Beide patiënten kwamen door de insuline (01,1 E/kg ideaal lich. gew.) in een ernstige hypoglycaemie (37 en 34 mg% plasmagluucose), zodat glucose moest worden toegediend. Van alle onderzochte gevallen waren deze 2 patiënten de enige waar het kalium uit de erythrocyten werd afgestaan tijdens intraveneuze insuline toediening. Mogelijk lag hieraan een soortgelijk mechanisme ten grondslag als bij de periodieke paralyse, waar waarschijnlijk onder invloed van een hoge kaliumopname door de spieren, de erythrocyten — ondanks een grote procentuele kaliumopname — toch hun kalium moesten afstaan. De gemiddelde kaliumconcentraties in het plasma van de 8 patiënten die allen een verhoogde kaliumopname vertoonden, waren 4,23-, 3,46-, 3,19- en 6,54 m aeq/l. De gemiddelde procentuele kaliumopname van 18,2 was hoger dan normaal ($P = 0,034$) (M.C.), wat nog duidelijker was na 6 uur met 23,5% opname. De gemiddelde intracellulaire kationconcentratie was voor kalium zowel als voor natrium normaal, terwijl de passieve electrolytenuitwisseling tussen 6 en 26 uur zowel voor kalium als voor natrium verhoogd bleek (tabel 26).

Interessant leek ons ook de erythrocytenstofwisseling bij een geval van verhoogde insulineproductie door een solitair pancreas-ade-noom, dat operatief werd verwijderd. Het betrof een 71-jarige man met ernstige hypoglycaemieën tot 30 mg %. Het in nuchtere toe-stand afgenomen kaliumgehalte van het plasma bleek tijdens het onderzoek niet verlaagd, integendeel aan de hoge kant, 4,50 m aeq/l, in tegenstelling tot het glucose gehalte van het plasma van 64 mg/100 ml. De veranderingen in het plasma vindt men in figuur 28.



Figuur 28. Veranderingen in kalium- en glucoseconcentraties tijdens 26 uur incubatie (insulinoom).
 ×-× = normalen.

Er bleek een sterke glycolyse van 41 mg/100 ml bloed in het eerste uur te bestaan, vergezeld van een kaliumdaling van 14,3% die na 2 uur 20,0% bedroeg. Hierna trad een kaliumuittreding uit de erythrocyten op, waarschijnlijk wegens gebrek aan verdere energie (plasmaglucoze). De passieve kaliumuittreding tussen 6 en 26 uur was vrij laag, 47%. De intracellulaire electrolyten werden niet bepaald. De erythrocyten van deze patiënt leken ons een fraai voor-beeld van vergrote metabolische activiteit door een verhoogde in-sulineconcentratie in het plasma en gaven steun aan de opvatting, dat het koolhydraat-metabolisme der erythrocyten (rechtsstreeks) wordt beïnvloed door insuline.

Vatten wij de waarnemingen der verschillende groepen samen, dan bleek er over de gehele linie een duidelijke parallel te bestaan tussen de intensiteit der glycolyse en van de kaliumopname. Hierbij is de glycolyse als primair te beschouwen, en de kaliumopname slechts een gevoelige graadmeter.

Bij de vergelijking van de bepalingsuitkomsten van de procentuele kaliumopname in 3 uur en de glycolysesnelheid als maat voor de grootte van de koolhydraatstofwisseling, bleken die van de laatste minder nauwkeurig te zijn door de erbij optredende grotere schommelingen en minder ver gevorderde bepalingstechniek.

De glycolyse en parallel er aan verlopende kaliumopname konden in 3 grote groepen worden gesplitst met verhoogde, normale, of verlaagde uitkomsten. Ze werden in tabel 35 en 36 en figuur 29 samengevat.

Hierbij werden de groepen gerangschikt naar de grootte van de procentuele kaliumopname en niet naar die van de glycolyse, hoewel de kaliumopname hiervan slechts een maat was. De reden hiervoor was de reeds genoemde minder grote betrouwbaarheid der glycolyse-uitkomsten.

Bij het beschouwen van deze laatsten werd de indruk gewekt van een „basis” glycolyse van ongeveer 5 mg/100 ml bloed/uur, die ook bij die individuele gevallen werd gevonden, waar in het geheel geen kaliumopname plaats vond. Dit legt nogmaals nadruk op het feit, dat men de interpretatie-mogelijkheden voor de procentuele kaliumopname steeds slechts tegen de achtergrond der glycolyse mag waarderen.

Naast de kaliumopname bleek ook de passieve kaliumuittreding bij de verschillende groepen ongelijk te verlopen. Daar ook hierin een zekere homogeniteit per ziektegroep werd gevonden, hebben wij de kaliumuittreding, die door afwezigheid van verdere energie (glycose) ontstond, als maat voor de passieve electrolyten uitwisseling (van kalium) door de erythrocytenmembraan genomen. Deze werd bepaald tussen 6 en 26 uur. De gegevens der verschillende groepen werden in tabel 26 samengesteld. Hieruit bleek, dat een verhoogde kaliumopname werd gevolgd door een verhoogde kaliumuittreding, de hyperthyreose uitgezonderd, terwijl een slechte glycolyse en kaliumopname door een lage uittreding werd gevolgd.

TABEL 35

Overzicht van concentraties van kalium en natrium in plasma en erythrocyten in m aeq/l cellen en per m aeq/l celwater.
Tevens overzicht van % K opname en glycolyse.

aantal	ziekte	% K opname		glycolyse mg/100 ml/u	plasma				erythrocyten							
		3 u	maximaal		K	Na	m aeq/l cellen	H ₂ O g/l	K	Na	m aeq/l water	K	Na	H ₂ O g/l	m aeq/l cellen	m aeq/l water
8	haemol. anaemie	18,3	20,5	17,9	4,00	144,8	914	4,4	157,1	97,09	15,03	718	134,1	20,9		
7	hepatitis infect.	17,0	20,1	17,3	4,40	139,1	921	4,8	151,1	92,63	12,60	712	130,1	17,0		
6	hyperthyreose	16,4	18,9	16,9	4,60	144,3	902	5,1	159,9	91,22	18,07	715	127,9	25,2		
9	insuline	}	23,9	20,1	4,20	145,1	915	4,6	157,9	90,10	20,34	710	125,8	28,4		
1	overgevoeligheid															
10	insulinoom		20,0	41		4,50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
4	normalen	13,4	15,2	12,3	4,08	143,9	923	4,7	155,8	93,09	16,48	716	130,0	23,0		
7	asthma (herstel)	13,2	17,0	15,9	4,34	141,3	913	4,8	154,2	93,15	18,62	727	127,9	27,2		
12	lichte diabetes	12,1	15,0	9,8	4,23	143,5	920	4,6	156,5	91,08	19,81	714	127,6	27,9		
6	maligne tumoren	11,4	15,2	16,0	4,51	142,7	914	4,9	156,3	100,43	23,18	724	136,2	32,0		
12	asthma aanval	11,2	11,2	10,3	3,85	143,0	913	4,2	156,5	93,64	18,82	719	133,8	28,1		
18	corticoiden	5,4	5,4	6,9	3,85	143,5	911	4,2	157,9	97,49	10,18	721	134,7	14,1		
7	levercirrhose	4,4	4,5	6,5	3,85	143,0	916	4,2	156,4	96,56	13,58	740	130,1	17,6		
8	nier insufficiëntie	2,8	5,5	9,2	4,60	148,2	920	5,0	160,6	92,58	12,58	714	128,9	16,5		
5	ernstige diabetes	2,5	2,5	5,7	4,44	142,5	914	4,9	157,0	93,55	15,70	695	134,7	22,7		
5	M. Addison	2,1	2,1	4,7	4,21	137,5	915	4,7	150,3	99,10	8,70	704	140,8	12,3		
5	hypokalaemie	1,48	1,48	5,6	3,07	141,8	919	3,3	155,2	103,25	17,45	767	134,6	22,8		
3	M. WALDENSTRÖM	1,43	1,43	8,0	4,24	—	—	—	—	—	—	—	—	—		

TABEL 36

Overzicht van veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l cellen) tijdens 26 uur incubatie. De nummers corresponderen met die van figuur 29.

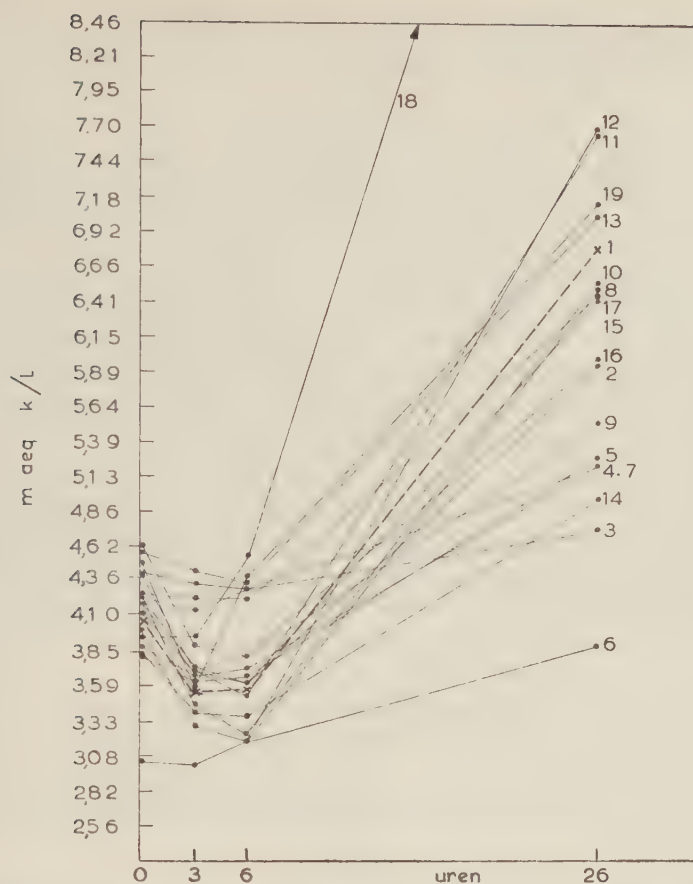
tijd	0	3	6	26	groep en aantal
no					
1	4,08	3,53	3,55	6,77	normalen (10)
2	4,23	3,72	3,60	5,93	lichte diabetes (7)
3	4,44	4,33	4,30	4,74	ernstige diabetes (8)
4	3,85	3,61	3,72	5,21	levercirrhose (18)
5	3,85	3,61	3,61	5,25	corticosteroiden (12)
6	3,07	3,03	3,19	3,85	hypokaliaemie (5)
7	4,21	4,13	4,28	5,21	M. ADDISON (5)
8	4,20	3,58	3,18	6,50	verhoogde insuline gevoeligheid (9)
9	4,60	3,90	3,85	5,58	hyperthyreose (6)
10	4,23	3,46	3,19	6,54	endocrine menggroep (8)
11	4,40	3,62	3,51	7,64	hepatitis infectiosa (7)
12	4,05	3,21	3,18	7,70	haemolytische anaemie (8)
13	4,60	4,50	4,34	7,05	nierziekten (7)
14	3,85	3,41	3,41	5,00	asthma bronchiale, aanval (6)
15	4,34	3,78	3,62	6,41	asthma bronchiale, herstel (4)
16	4,51	4,00	3,85	6,85	maligne tumoren (12)
17	4,24	4,18	4,19	6,47	M. WALDENSTRÖM (3)
18	3,95	3,95	4,54	13,0	Marchiafava-Micheli anaemie (1)
19	4,50	3,60	4,38	7,15	insulinoom (1)

Het lijkt ons dan ook waarschijnlijk dat dit verschil in passieve uitwisseling in hoofdzaak wordt beheerst door de functionele toestand van de erythrocytenmembranen en minder door verschil in Donnan effecten, zodat wij hier het eerder verlaten begrip der permeabiliteit weer zouden willen invoeren.

De veranderingen in de natriumconcentraties tussen plasma en erythrocyten bleken geen verband te houden met die van het kalium.

In de meeste gevallen werd van het begin af aan een natriumopname geconstateerd, die echter tijdens de glycolyseperiode (de eerste 6 uur) meestal kleiner was dan er na (tabel 26). Het lag voor de hand een verklaring hiervoor te zoeken in de actieve natriumuitdrijving, die in de literatuur veelvuldig is beschreven. Deze actieve natriumuitdrijving was slechts in twee groepen groter dan de passieve natriumopname in dezelfde periode, nl bij de maligne tumoren en tijdens de herstelfase bij asthma.

Bij de groepen met corticosteroïdentherapie, levercirrhose en



Figuur 29. Overzicht van veranderingen in kaliumconcentraties in plasma (m aeq/l cellen) gedurende 26 uur incubatie. Voor nr. zie tabel 26.

hypokaliaemie was de natriumopname in de eerste 6 uur zelfs groter dan er na, evenals in lichte mate bij de normalen. De natriumopname tussen 6 en 26 uur door de erythrocyten werd als criterium genomen voor de passieve permeabiliteit van de erythrocytenmembraan voor natriumionen. Er kon geen verband worden gevonden tussen de permeabiliteit voor kalium en voor natrium (tabel 26). Hiernaast werd in dezelfde tabel eveneens de totale opname aan kationen in m aeq/l cellen en per liter intracellulair water voor de verschillende groepen samengesteld, waarbij het grote verschil hierin duidelijk naar voren komt.

Tenslotte werd in tabel 35 nog een overzicht gegeven van de

electrolytenconcentraties in plasma — en erythrocytenwater voor de verschillende onderzochte groepen.

Aan het einde van dit onderzoek willen wij ons de vraag stellen, welke waarde bovengenoemde onderzoekingen voor de kliniek kunnen hebben. Deze vraag kan in een theoretisch en in een praktisch gedeelte worden gesplitst.

Theoretisch moet elke methode die verder licht kan brengen in problemen van de stofwisseling, in dit geval met name van de stofwisseling van erythrocyten, worden toegejuicht. In de praktijk echter zal het gebruiken van die methode afhankelijk zijn van de eisen, hierdoor aan het (routine-) laboratorium gesteld.

Wij menen, dat de theoretische waarde van bovengenoemde methode is gebaseerd op het feit, dat de erythrocyten een gemakkelijk te bepalen graadmeter blijken te zijn van de stofwisseling van koolhydraten en electrolyten, zoals deze zich waarschijnlijk in de meeste perifere weefsels manifesteert. Deze conclusie is gebaseerd op de uitkomsten die bij de verschillende ziekten werden verkregen, en vastgelegd in de tabellen 26, 28, 30–33.

Er zijn hierin voldoende argumenten verzameld om aan te nemen dat de stofwisseling der erythrocyten vergelijkbaar is met die van het gehele lichaam, zodat bovengenoemde methode eenzelfde waardering krijgt als bv de bepaling van grondstofwisseling, GTT, cholesterol etc.

Hiernaast behouden de erythrocyten echter hun eigen karakter, zoals bij de haemolytische anaemieën tot uiting kwam, zodat in deze gevallen bovengenoemde waardering moet worden vervangen door één voor de stofwisseling der erythrocyten zelf.

Door het nagaan van de uitwisselingen van de electrolyten tussen plasma en erythrocyten tijdens incubatie — na verbruikt zijn van de energiebron, het plasma-glucose — kan een inzicht verkregen worden in de permeabiliteit der erythrocytenmembraan, zoals deze zich passief gedraagt voor kalium en natrium. Mogelijk weerspiegelt zich ook hierin het karakter van andere weefselmembranen voor de doorgankelijkheid van deze electrolyten en glucose, wat op grond van de waarnemingen bij corticosteroïden, insuline-toediening en bij de periodieke paralyse in elk geval waarschijnlijk is. Een antwoord hierop zal pas kunnen worden gegeven na vergelijkende onderzoekingen met andere weefsels in vitro. Voor de

practische toepassing van bovengenoemde methode is een nauwkeurige bepaling van kalium en natrium noodzakelijk, wat ook in een routinelaboratorium redelijkerwijs te verwezenlijken is. Bij de keuze tussen bepaling van glycolyse of procentuele kaliumopname, die meestal, doch niet altijd, parallel aan elkaar verlopen, menen wij de bepaling der procentuele kaliumopname de voorkeur te moeten geven door de betere reproduceerbaarheid. De bepaling van concentraties aan electrolyten in de erythrocyten is zowel met de rechtstreekse als met de indirecte methode nog betrekkelijk tijdrovend en lijkt ons om deze redenen voorlopig minder te kunnen bieden dan de andere methoden.

Voor sommige vraagstukken, als dat der osmotische haemolyse, lijkt de bepaling hiervan in ieder geval zinvol, evenals bij de beoordeling van electrolytenstoornissen elders in het lichaam, zoals door ROEGHOLT [17] uitvoerig is nagegaan.

Op deze gronden menen wij dus de vraag of bovengenoemde onderzoekingsmethoden van praktische betekenis voor de kliniek kunnen zijn, bevestigend te mogen beantwoorden.

APPENDIX

Enkele klinische en biochemische gegevens der verschillende onderzochte groepen, die ter wille van de overzichtelijkheid niet eerder waren gegeven, worden onderstaand samengevat.

I. NORMALEN

10 manlijke personen van 20–21 jaar, hiernaast nog 9 manlijke en 7 vrouwelijke personen van 19–49 jaar ter beoordeling der procentuele kalium opname; gerecruteerd uit het medische verplegend en behandelend personeel van het Centraal Militair Hospitaal, Utrecht. Anamnestic in laatste maand voor bloedafname geen doorgemaakte infecties, geen vaccinaties.

II. VERSCHILLENDE ZIEKTETOESTANDEN

1. *Diabetes mellitus*

15 patiënten, 10 mannen en 5 vrouwen van 19–60 jaar. Gegevens in tabellen 12 en 13.

2. *Levercirrhose*

18 manlijke patienten van 19 tot 57 jaar. Gegevens in tabel 16. Allen leverziekten in anamnese behalve no 15, 19 jaar, met hepatolenticulaire degeneratie, 2 jaar klachten. Ouders: neef en nicht, jongere zuster overleed aan M. Wilson tijdens opname van patient. Patiënt vertoonde leucopenie en thrombopenie (hypersplenie?), kopergehalte in urine verhoogd ($273 \gamma/24$ u., norm $< 80 \gamma$), in serum $180 \gamma\%$, ring van Kayser-Fleischer pos., neurologisch geen duidelijke afwijkingen. Geen amino-acidure, nierfuncties intact. De no's 2, 4, 9, 10, 12, 14, 16, 17, 18 verbleven in Japanse krijgsgevangenkampen, maakten allen amoebendysenterie, hongeroedeem, icterus (hepatitis?) door. No 1 had levercirrhose bij M. Besnier-Boeck, no 3, 7 en 8 chronisch alcohol, no 5 en 11 ernstige hepatitis infectiosa, no 6 gegevens verloren, no 13 alcohol, lues en hepatitis.

3. Anaemieën

Allen mannen, 2 hypochrome anaemieën; met Hb van 67 en 60%, beiden door onvoldoende voeding. Erythrocyten resp. 4,2 en $4,4 \times 10^6/\text{ml}$, serum Fe 40 en 32 $\gamma\%$, benzidine neg., maagzuur +, na Fe toediening spoedig herstel; 3 maagbloedingen met Hb van 59, 42 en 35%, en haematocriet van 34,2, 23,0 en 17,5%. Alle 3 positieve maaganamnese, no 2 conservatief, no 1 en 3 later maag-resectie. 2 aplastische anaemieën, manifest wordend door haemorrhagische diathese, thrombopenie, leucopenie. Coombs. neg., 1e patiënt milt nooit vergroot, 2e later splenomegalie; beenmerg: aplastisch. Tijdelijke reactie op hoge dosis cortison en prednison, succombeerden na herhaaldelijke infecties.

Acht Haemolytische anaemieën

	1	2	3	4	5	6	7	8
fam. anamnese	+	—	—	—	—	±	—	+
icterus sinds jeugd	+	—	+	—	—	+	—	+
pijnaanvallen in bovenbuik	±	—	—	±	—	+	—	+
icterus	+	+	+	+	+	+	+	+
splenomegalie	+	—	±	—	±	+	—	+
Hb	92	85	88	90	85	92	95	89
erythrocyten . $\times 10^6$	5	4,2	4,1	4,9	4,5	5	5,2	4,4
reticulocyten %	6	12	5	—	—	8	14	17
doorsnede der erythrocyten (μ)	6,3	7,3	6,7	7,4	7,2	6,4	7,2	6,2
sphero-(micro)cyten	+	±	+	±	—	+	+	+
bilirubinaemie (E)	7,2	4,2	6,8	4,1	3,9	6,3	5,1	7,7
snellheid (%)	6,5	12	9,5	ind	12	7,9	12,6	11,5
alk. fosfatase (E)	5	7,1	8,8	5,2	8,4	6,2	5,9	16,8
haematocriet (%)	46,3	45,4	44,6	46,3	40,5	49,7	49,1	42,0
résistance glob. } min.	0,56	0,48	0,56	0,46	0,50	0,63	0,46	0,60
% NaCl } max.	0,40	0,37	0,40	0,35	0,37	0,45	0,35	0,45
Coombs	—	—	—	—	—	—	—	—
urobilinogeen faeces (mg 24 u)	—	280	—	306	—	—	—	—
diagnose								
h.a. = haemol. anaemie	}	c.s.	h.a.	c.s.?	h.a.	h.a.	c.s.	h.a.
c.s. = congenitale spherocytose								

Drie gevallen van M. Waldenström, diagnose gesteld door ultra-centrifuge, uitvoerige gegevens bij IMHOFF, J. W., Diss. Utrecht 1958: De Macroglobulinaemie van Waldenström als no 3, vD, no 4, vDe, en no 5, K. In eigen onderzoek in tabel 21, resp. als no 2, 1 en 3. *Eén geval van M. Kahler* op klinisch beeld, eiwit-spectrum, beenmerg etc. gesteld; BSE 160 mm.

Een geval van paroxysmale nachtelijke haemoglobinurie, van Dr. S. I. DE VRIES, Amsterdam, afkomstig. Sinds 1933 anaemie. Sinds 1937 haemoglobinurie, lever 4, milt 6 vingers onder ribbenboog. Hb 45% ery's $2,6 \cdot 10^6$, leucocyten 2700, thrombocyten 60.000, reticulocyten 162‰. Coombs sterk pos.; leucocyten antilichamen pos., bilirubine 4,4 E, snelheid 80%, alk. fosfatase 9,2 E. Urine-sediment: haemosiderine. Warmte-resistentie v. Hegglin-Mayer pos., acid-serum test pos., résistance globulaire normaal.

2 *Gevallen van acute myeloïde leucaemie*, hoge koorts, haemorrhagische diathese, splenomegalie, perifeer bloedbeeld en beenmerg blasten-leucaemie, sterke anaemie. Beiden door sectie bevestigd.

4. Corticosteroïden toepassing

Twaalf patiënten, 11 mannen en één vrouw (M. ADDISON). Diagnose van no 1 en 9 gesteld op longbeeld, fundusafwijkingen, positieve Daniels biopsie, hypercalciurie. No 2, 5, 7, 8, 10, 11 en 12 door sectie bevestigd, no 3 op anamnese, klinische beeld, koorts, BSE, cor-afwijkingen (pancarditis), AST-verhoging etc. gesteld. No 4 had een anamnese van enige jaren hypertensie, urineafwijkingen, moeheid en wisselende oedemen, ontstaan na een acute glomerulonephritis. Tijdens opname tensie 165/120, wisselende oedemen, urine: alb. +, sediment erythrocyten, cylinders, leucocyten, thio-sulfaatclearance 67%, bloedureum 75 mg‰, conc. 1016, eiwit-spectrum: alb. 40,9%, γ glob 22,3%, AST 1000E. Gegevens no 6 onder M. ADDISON.

5. M. Addison

Vier vrouwen, één man. Gegevens in onderstaande tabel.

	1	2	3	4	5
Koch anamnese	+	+	+	—	—
Adynamie	+	+	+	+	+
Pigmentaties	+	+	+	+	+
Tensie	110/65	110/70	90/60	85/50	100/60
Hypoglycaemie na ITT	+	+	+	+	+
R.P.K. test	+	+	+	+	+
Gastro-intestinale klachten	+	+	+	+	+
Geslacht	♀	♀	♀	♀	♂
17 ketosteroïden urine (mg/24 uur)	—	—	—	±1,5	±2

6. Hypokaliaemie

Vier manlijke patiënten, één vrouwelijke, no 1 ernstige levercirrhose door M. BESNIER-BOECK, reeds beschreven tabel 17; no 2 status asthmaticus sinds 2 dagen, beschreven als no 1, groep asthmapatiënten. No 3 M. Addison in periode van ernstig braken, beschreven als no 1 in groep 6; no 4 inoperabel longcarcinoom, tegen de heftige pijnen behandeld met codeïne 3×20 mg, largactil 3×25 mg, cortison 3×25 mg, KCl 3 gram, vit. A 300.000E, vit. C 1 gram dd. Braakte geregeld o.a. na KCl drank; cortisontherapie sinds 7 maanden, klinische kaliumdepletie. No 5. Levercirrhose, werd onderzocht 3 dagen na maagresectie, reageerde ernstig op narcose o.a. met langdurig braken.

Periodieke paralyse, ♂, 47 jaar, in 1934 door BIEMOND gepubliceerd. Sinds ruim 25 jaar aanvallen van paresen en paralyzen, hoofdzakelijk 's nachts optredend, de laatste jaren in frequentie toenemend. Duur der aanvallen van enkele uren tot 30 uur. Aanvallen kunnen worden opgewekt door glucose, insuline, verdwijnen na KCl-toediening. Tijdens de aanvallen regelmatig hypokaliaemie. Familie anamnese positief.

7. Hepatitis infectiosa

Van de 7 gevallen werden de gegevens in onderstaande tabel verzameld. Bij allen werden de erythrocyten in het begin der ziekte onderzocht. Eén geval werd door Pfeiffer-virus veroorzaakt.

No	1	2	3	4	5	6	7
icterus	—	+	+	+	+	+	+
hepatomegalie	+	+	+	+	+	+	+
splenomegalie	+	+	±	+	+	+	+
haemorr. diathese	++	—	—	—	±	—	—
H. v. d. B. (E)	19,0	16,5	7,84	15,1	12,2	15,0	18,4
1 min % (direct +)	dir.	dir.	dir.	dir.	dir.	dir.	dir.
T.T.T. (E)	19,1	4,3	4,0	6,8	5,9	4,4	1,2
Alk. fosfatase (E)	23,2	14,4	12,7	14,4	13,7	19,8	4,2
cholesterol (‰)	3,1	1,75	2,31	1,71	2,11	2,1	1,2
esters (%)	30	56	53	50	57	70	40
gros. (cc.)	1,0	1,9	1,8	1,6	1,9	1,7	2
ca. form. gel (gr/l)	—	<19,5	21,1	<19,5	<19,5	<19,5	<19,5
urobilinurie	+	+	+	+	+	+	+
bilirubinurie	++	+	+	++	+	+	++
eiwit spectrum } alb	60,8	62,7	59,1	62,4	67,3	53,1	58,2
% } γ glob	19,6	17,1	19,4	15,4	19,2	17,7	20,6
B.S.E.	$\frac{36}{74}$	$\frac{4}{9}$	$\frac{3}{7}$	$\frac{5}{8}$	$\frac{4}{11}$	$\frac{8}{14}$	$\frac{7}{13}$
Pfeiffercellen	+	—	—	—	—	—	—

8. Hyperthyreose

Zes manlijke patientën. Een gedeelte der gegevens vindt men op blz. 105, de rest in onderstaande tabel. Opname van radioactief jodium werd niet onderzocht.

No	1	2	3	4	5	6
duur tot onderzoek	3 mnd	2 w.	3 w.	enkele mnd	idem	
vermagering	+	+	+	+	+	+
transpireren	+	+	+	+	+	+
tremoren	+	+	+	+	+	+
exophthalmus	—	+	+	—	—	—
thyreoid vergroting	—	+	+	—	+	—
frequente def.	±	+	+	±	±	+
tensie	160/85	175/90	155/90	155/85	140/90	140/95
pols	104	120	116	100	112	104
BM verhoging (%)	30	51	48	19,5	64	22
cholest.	1,57	1,51	1,34	1,76	1,71	1,60
path. GTT	+	+	+	+	?	±

9. Insuline overgevoeligheid

Negen manlijke patiënten, no 1 snel vermoeid, duizeligheid, asthene habitus, intern gb. BM-5%, leverf. gb., n. bloedsuiker 0,96%, GTT norm. ITT ernstige hypoglycaemie tot 34 mg%, GITT daling tot 50 mg%. RPK norm. 17 ketosteroiden 13,6 mg/24 u., 17 hydroxysteroiden 5,8 mg/24 u. Pack-test: collaps, tensie 110/65.

No 2 asthene habitus, mager, goede eetlust, snelle collaps bij inspanning, tensie 120/80. BM + 6%. GTT norm. ITT hypoglycaemie, bij 40 mg% glucosetoediening noodzakelijk. GITT daling tot 63 mg%. Pack-test: collaps.

No 3: snel vermoeid, asthene habitus, inspannings-urticaria. BM + 9%, tensie 115/70. ITT: hypoglycaemie, 42 mg%, collaps. Pack-test: collaps.

No 4: snel vermoeid, astheen. BM + 6%, tensie 110/50. ITT: hypoglycaemie tot 32 mg%. GITT daling tot 56 mg%. Pack-test: collaps.

No 5: asthene habitus. BM + 8%, eosinophilie, insuline overgevoelig, ITT tot 39 mg%, GITT tot 67 mg%. Collaps na ITT en bij Pack-test. anamnestic veel allergie.

No 6: snel vermoeid en duizelig. Astheen. BM-3%. ITT en

GITT overgevoelig voor insuline, bloedsuikerdaling tot 30 mg%. RPK normaal, tensie 115/60. 17 ketosteroiden 12,9 mg%.

No 7: astheen, kinderlijk, cryptorchismus. 2 weken voor opname plotselinge totale haaruitval, interne organen gb, tensie 120/90. BM + 6%, GTT vlak, ITT tot 34 mg%, collaps. GITT tot 45 mg%, 17 ketosteroiden 15,0 mg/24 uur, geen foci.

No 8: asthene habitus, allergische constitutie, snel vermoeid, veelvuldig kuitkrampen, veel transpireren, inwendige organen gb, tensie 120/85, BM-1½%. Eosinophilie, RPK normaal. ITT tot 30 mg%, onderbroken door glucose toediening, 17 ketosteroiden 8,3 mg/24 uur, na ACTH belasting 14,4 mg/24 uur. Bloed calcium steeds normaal (9,3-10,5 mg%). Geen kramp na hyperventilatie.

No 9: laatste tijd snel vermoeid, allergische constitutie, 3 weken voor opname in enkele dagen totale haaruitval. Interne organen gb, tensie 135/85. Eosinophilie, BM + 3%, GTT vlak. ITT tot 30 mg%, onderbroken door glucose, ernstige collaps. GITT tot 47 mg%. RPK normaal, 17 ketosteroiden 16,9 mg/24 uur, geen foci.

10. Asthma bronchiale

Zes manlijke patiënten.

Pat. 1, in status asthmaticus opgenomen, 48 uur onafgebroken aanval, purulente bronchitis, sinusitis, allergische constitutie, aanvallen vanaf 2de levensjaar.

Pat. 2, allergische constitutie, vanaf 3de levensjaar asthma, op 16de jaar neusverwijding. 12 uur voor opname aanval; sputumkweek neg., eosinophiele cellen 267/ml.

Pat. 3, in status asthmaticus opgenomen, duur reeds 48 uur. Vanaf 2de levensjaar aanvallen. Allergie voor huisvuil. Veel purulent sputum, sputumkweek pneumococci, temperatuur 38.2. Aanval slechts te onderbreken door ACTH.

Pat. 4 in vrij lichte aanval opgenomen, duur 10 uur. Vanaf 12de jaar aanvallen, chronisch verkouden, feminine habitus, eosinophilie, sputumkweek neg. ITT en GITT normaal. 17 ketosteroiden 5,8 mg/24 uur; 17 hydroxycorticosteroiden 4,9 mg/24 uur, oestrogenen 100 E/24 uur.

Pat. 5, lichte aanval, allergische constitutie. Asthma vanaf 7de levensjaar. Weinig bronchitis. Eosinophilie, sputumkweek neg.

Pat. 6 ernstige aanval sinds 24 uur, ontstaan na overplaatsing

(psychisch²), purulente bronchitis, kweek: haemophilus. Onderbreking zonder corticosteroiden.

Pat. 7 is pat. 1, bloed werd 4 dagen na beeindigen der aanval normaal onderzocht. Pat. 8 is pat. 3, pat. 9 is no 2, pat. 10 is no 6. Bij allen werd 4 dagen na beeindigen der aanval wederom bloed afgenomen.

11. Nierziekten

Zeven manlijke personen.

no	1	2	3	4	5	6	7
duur	2 jaar	jaren	>10 j	?	>5 j	>8 j	?
tensie	210/120	145/115	150/100	135/80	140/100	240/170	130/90
oedemen	—	—	—	—	+	—	+
ureum (mg %)	67	60	330	82	61	190	57
clearance	46	44	<15%	35	45	23	50
Hb %	85	78	60	72	65	53	65
Na maeq/l	157	144	143	141	142	156	142
K maeq/l	5,45	4,36	4,94	3,97	3,76	5,06	4,68
urine	kweek	—	staphylococ.	—	coli	—	—
	concentratie	1015	1016	1012	1017	1018	1016
	alb	±	+	+	++	±	+
	ery's	+	±	±	±	±	—
	leuco's	±	±	++	+	±	±
	cylinders	+	+	+	++	±	+
IVP	gb	links afwezig	hydro-nephrose	slecht	gb	spastisch	gb

12. Maligne tumoren

no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
diagnose	lympho-sarc.	long ca.	M. Hodgkin	long ca.	lympho-sarc.	long ca.	long ca.	lympho-sarc.	bot sarc.	rectum ca.	long ca.	pancreas ca.
cachexie	—	+	—	—	+	—	—	—	+	—	+	—
metastasen	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+
leeftijd	19	47	45	43	53	57	47	21	23	47	45	43
alk. fosfatase	7,4	11,2	—	6,3	14,1	4,7	7,8	—	24,8	6,7	17,3	19,8

13. Verschillende endocriene afwijkingen

Acht manlijke patiënten.

No 1 beschreven als no 9 der insuline overgevoeligheid. No 3 als no 7.

No 2 in enkele weken tijds totale haaruitval, voordien periode van

lusteloosheid en moeheid. Interne organen gb, GTT vlak, ITT tot 31 mg%, onderbroken door glucosetoediening. GITT tot 58 mg% dalend. RPK normaal, 17 ketosteroiden 11,3 mg/24 uur. Geen foci.

No 4 spieratrofie e.c.i. 19 jaar, 2 jaar voordien met pijn in kuiten na inspanning begonnen, later ook in rust. Aanvankelijk met koorts en zweten gepaard, frequent subfebrile temp. Algemene malaise, toenemende atrofie der kuiten en onderarmen, bovenbenen en armen in lichtere mate evenals lange rugspieren. Tensie 120/75, reflexen normaal. Eosinophilie. A.C.W. neg., trichinella neg. RPK neg. ITT tot 46 mg%, gecoupeerd met glucose. 17 ketosteroiden 8,7 mg/24 u, gonadotrope stoffen < 15 E/24 u. Eiwitspectrum g.a. Creatine, creatinine norm. Spierbiopsie: spieratrofie, vermeerderd bindweefsel, eosinophile cellen: myositis?

No 5 en 6 dystrophia musculorum progressiva. Progressieve atrofie begonnen 2 jaar resp. 7 mnd. voor opname. Beiden scapulae alatae, no 1 pseudohypertrofie linker kuit, atrofie rechter kuit en beide bovenbenen en armen. APR links afw., KPR l < r. Pseudobabinski, no 2 geen pseudohypertrofie. Borst- en bekkenspieren en extremiteiten atrophisch.

Intern: beiden overgevoelig voor insuline, ITT tot 45 en 32 mg, met duidelijke hypoglycaemie-reactie. GTT tot 142 en 167 mg%. GITT tot 56 en 36 mg dalend met hypoglycaemie reactie. Leverfuncties ongestoord, alk. fosfatase 4 en 6,2 E. Pat. no 1 nog adrenalinetolerantie test → geen bloedsuikerstijging (78, 78, 79, 76, 74 en 79 mg%). Galactose proef ongestoord, bloed creatinine 1,0 en 0,9 mg%, creatinine urine 1,4 en 1,1 g/24 u., bloed creatine 0,9 en 0 mg%. Creatine urine 100 en 142 mg/24 u. 17 ketosteroiden 12,8 mg/24 u en 14,3 mg/24 u, 17 hydroxycorticosteroiden 11,0 en 6,9 mg/24 u, oestrogenen pat. 1: 100 E/24 u, gonadotrope stoffen < 15 E/24 u.

No 7 en 8 hypogonadisme, beiden infantiel, feminine beharing, kleine testes, penis en prostaat. 17 ketosteroiden 4,8 en 3,1 mg/24 u., 17 hydroxycorticoiden 2,9 en 3,4 mg/24 u. Beiden overgevoelig voor insuline. ITT tot 41 en 43 mg%, hypoglycaemie-reacties. GITT daling tot 69 en 58 mg%.

Insulinoom, man 71 jaar. Sinds 1946 bekend met diabetes mellitus, laatste 2 jaar insuline therapie, uit eigen beweging gestaakt wegens hypoglycaemieën. Tijdens opname manifeste spontane hypoglycaemieën, bloedsuiker tot 50 mg%. Operatie: insulinoma.

SAMENVATTING

In 1941 deelde DANOWSKI mede dat erythrocyten bij 37°C in onstolbaar gemaakt bloed naast glucose ook kalium opnemen. Voordien was reeds bekend dat zij bij bewaren kalium aan de omgeving afstaan en dat transfusies met lang bewaard bloed hierdoor gevaarlijk zijn. De laatste 20 jaar werden vele gegevens verkregen over de samenhang tussen electrolytenverschuivingen en koolhydraatstofwisseling van normale erythrocyten. Hierover waren onder pathologische omstandigheden practisch geen gegevens bekend. Dat erythrocyten na bloedafname kalium opnemen tegen een concentratie er van in, kreeg eveneens weinig aandacht. Toch kan deze opname niet als normaal worden beschouwd, daar anders in vivo erythrocyten na enige tijd door osmotische zwelling ten onder zouden gaan. Ook experimenten met K^{42} in vivo wijzen niet in de richting van deze eenzijdig verschoven kaliumopname.

Wij hebben de koolhydraatstofwisseling van mensen erythrocyten en de eraan verbonden kalium- en natriumverschuivingen onder normale en pathologische omstandigheden onderzocht. Hiertoe werd in onstolbaar gemaakt, bij 37°C geïncubeerd bloed het gehalte aan glucose, kalium en natrium van plasma en erythrocyten op geregelde tijdstippen bepaald.

In hoofdstuk II werden de belangrijkste gegevens uit de literatuur over de koolhydraat-, kalium-, natrium-, en fosfaatstofwisseling van erythrocyten verzameld.

In hoofdstuk III werden de aan de methodiek verbonden problemen besproken. Voor de bepaling der intracellulaire concentraties bestaan 2 methoden: de directe, waarbij rechtstreeks de te onderzoeken stoffen worden bepaald en de indirecte waarbij het verschil wordt bepaald tussen de concentraties in bloed en plasma na correctie tot gelijke volumeverhoudingen (haematocrietgetal). Wij kwamen tot de conclusie dat de indirecte methode de voorkeur verdient. Hierbij is de bepaling der haematocrietwaarde van groot

belang. Door verbetering van enkele details werd een standaarddeviatie van 0,195% verkregen.

De vlamfotometrische analyse werd kritisch besproken en de nauwkeurigheid van onze bepalingen nagegaan. Wij kwamen zowel voor kalium- als voor natriumbepalingen in plasma op een standaarddeviatie van 0,24% voor het gemiddelde van 25 waarnemingen en op 1% voor de enkelvoudige bepaling.

Een nieuwe methode voor de bepaling van het intercellulaire plasma werd ontwikkeld. Zij is gebaseerd op het verschil in soortelijk gewicht tussen erythrocyten, bloed en plasma. Met deze methode werd een intercellulair plasmavolume van $1,6\% \pm 0,26$ gevonden, waarmee de volumecorrecties werden verricht.

Voor de bepaling der glucose-concentraties in plasma werd de methode van Hagedorn-Jensen gebruikt. De statistische bewerkingen werden met de toetsen van Kendall, Wilcoxon en Student uitgevoerd.

In hoofdstuk IV werden de eigen waarnemingen besproken. Het bloed van 10 normale personen werd geanalyseerd. De erythrocyten bleken bij incubatie bij 37°C aanvankelijk kalium uit het plasma op te nemen. Na 3 uur bedroeg deze opname gemiddeld $13,4\% \pm 0,96$ van de beginwaarde van het plasma. De hierbij optredende glycolyse was vrijwel constant en bedroeg gemiddeld 12,3 mg per 100 ml bloed per uur.

Daar er een fraaie correlatie bleek te bestaan tussen glucoseverbruik en kaliumopname door de erythrocyten in de eerste 3 uur incubatie, werd de laatste als een maat beschouwd voor de glycolysesnelheid. Het natriumgehalte der erythrocyten nam tijdens de incubatie onmiddellijk toe; de kalium- en natriumopname veroorzaakten een volumetoename der erythrocyten van 49,4 tot 53,9%.

De uitwisseling van kalium en natrium na verbruik van de in het plasma aanwezige glucose werd beschouwd als een maat voor de doorgankelijkheid der erythrocytenmembraan hiervoor. Deze bleek bij ziekten afwijkend te kunnen zijn.

Van onze patiënten met diabetes mellitus toonden de erythrocyten van sommigen een verminderde en die van anderen een normale glycolyse en kaliumopname. Bij de eerste groep kon ook bij klinisch goede regeling, die bij hen allen met insuline moest geschieden, geen normalisering der koolhydraatstofwisseling der erythrocyten worden bereikt. Slechts bij overmaat insuline gelukte het

de glycolyse en kaliumopname der erythrocyten in vitro te verbeteren.

De erythrocyten van de groep met de normale kaliumopname bleken, in tegenstelling tot normale rode bloedlichaampjes, soms gedurende 9 uur incubatie kalium op te blijven nemen. Bij experimenten in vitro over de invloed van insuline op de glycolyse van erythrocyten bij verschillende ziekten werd in ongeveer de helft der gevallen een duidelijk effect op glycolyse en kaliumopname gevonden. Aangenomen werd dat bij de negatieve resultaten reeds een maximale glycolyse en kaliumopname bestond.

Ook de erythrocyten van 18 patiënten met levercirrhose toonden een sterk geremde glycolyse en kaliumopname. Het plasma van een patiënt met een ernstige levercirrhose bleek de glycolyse van normale erythrocyten sterk te kunnen remmen. Tegen erythrocyten gerichte antilichamen konden niet worden gevonden. De geremde glycolyse van patiënten met levercirrhose bleek zowel door normaal plasma als door insuline of inosine te kunnen worden verbeterd.

Het bloed van patiënten met verschillende anaemieën werd onderzocht. 2 Gevallen van hypochrome anaemie hadden een te hoog kaliumgehalte in de erythrocyten, 3 patiënten met acuut bloedverlies vertoonden een zeer sterk geremde glycolyse en kaliumopname der erythrocyten, terwijl het intracellulaire kaliumgehalte zeer hoog en het natriumgehalte veel te laag lag. 8 Haemolytische anaemieën werden onderzocht, waarvan 3 (4?) tot de congenitale spherocytose behoorden, terwijl bij geen der 8 patiënten tegen erythrocyten gerichte antilichamen werden gevonden. Alle 8 vertoonden een verhoogde glycolyse en kaliumopname. Eén geval van congenitale spherocytose werd geanalyseerd voor en na miltectomie terwijl ook het miltbloed werd onderzocht. Het volume der erythrocyten in de milt was 12,1% groter, de glycolyse en kaliumopname ervan in vitro aanmerkelijk lager dan van het perifere bloed. De passieve electrolytenuitwisseling tussen plasma en erythrocyten was postoperatief toegenomen.

Op grond van deze gegevens werd de veronderstelling geuit van osmotische erythrolyse in vivo door stase in de milt, waarbij de erythrocytenmembraan, mogelijk na beschadiging door in de milt aanwezige factoren (lysolecithine, acetylcholine?), meer natrium dan kalium uitwisselt, met tot gevolg een toename van het celvolume.

Bij 3 patiënten met macroglobulinaemie werd een sterk geremde

glycolyse en kaliumopname gevonden, evenals bij een ernstig geval met de ziekte van Kahler. Uit mengproeven van erythrocyten van één van de patiënten met M. Waldenström met normaal plasma en omgekeerd bleek de geremde glycolyse aan de erythrocyten te zijn gebonden.

Een patiënte met paroxysmale nachtelijke haemoglobinurie werd onderzocht. Hierbij werd een verhoogde glycolyse waargenomen zonder overeenkomstige kaliumopname; er bestond zelfs een zeer sterke kaliumuittreding gedurende de gehele incubatie.

Twee gevallen van acute myeloïde leucaemie werden onderzocht. Hierbij bleek het grote aantal leucocyten van grote invloed te zijn op de glycolyse. Deze was ondanks anaërobe omstandigheden duidelijk verhoogd zonder met een kaliumopname naar de cellen gepaard te gaan. Na verdwijnen van het plasmaglucose was het kaliumverlies zeer sterk. Tijdens een door behandeling met ACTH ontstane periode van leucopenie werd een slechte glycolyse en kaliumopname door de erythrocyten gevonden.

Bij 12 patiënten die met corticosteroïden werden behandeld werd het effect op glycolyse en electrolytenverschuivingen nagegaan. Hierbij bleek de glycolyse sterk te zijn geremd terwijl de kaliumopname overeenkomstig laag was. De corticosteroïden veroorzaakten tevens een duidelijke vergroting der doorgankelijkheid der erythrocytenmembraan voor natrium tijdens incubatie. In vergelijking met de andere groepen bleek de corticosteroïdengroep quantitatief een zeer grote passieve natriumopname met een verlaagde kaliumuittreding te tonen, zodat een aanmerkelijke volumevermeerdering optrad die slechts door die bij M. Addison werd overtroffen.

Vijfpatiënten met M. Addison werden onderzocht. Afhankelijk van de klinische toestand werden verschillende electrolytenconcentraties in plasma en erythrocyten gevonden. Intracellulair was de gemiddelde kaliumconcentratie verhoogd, het natriumgehalte verlaagd. Bij alle gevallen waren glycolyse en kaliumopname duidelijk gestoord.

De erythrocyten van 5 patiënten met een te laag kaliumgehalte in het plasma werden onderzocht. Er werden steeds een sterk geremde glycolyse en kaliumopname gevonden.

Het bloed van een patiënt lijdende aan periodieke paralyse werd 3 maal geanalyseerd: tijdens een aanval, tijdens het hierop volgende herstel en in een aanval-vrije periode. Er bestond tijdens de aanval in het plasma een laag kaliumgehalte en een hoge natriumconcen-

tratie. De erythrocyten hadden hierbij een verlaagd kaliumgehalte ondanks het feit dat de glycolyse en kaliumopname in vitro verhoogd bleken. Buiten de aanval was het kaliumgehalte in de erythrocyten verhoogd. Er bestonden aanwijzingen voor een verhoogde kationendoorgankelijkheid door de erythrocytenmembraan tijdens de aanval. In vitro kon dit met acetylcholine worden nagebootst. Het is waarschijnlijk dat een groot gedeelte van het tijdens de aanvallen in de spieren opgenomen kalium uit de erythrocyten afkomstig is.

Bij 7 patiënten met hepatitis infectiosa bleken glycolyse en kaliumopname door de erythrocyten duidelijk verhoogd evenals bij 6 patiënten met hyperthyreose. Het natriumgehalte der erythrocyten bij hyperthyreose lag hoog, een afwijking die reeds door BOEKELMAN was vastgesteld. Deze verhoogde waarde werd echter ook gevonden in erythrocyten van patiënten met verhoogde gevoeligheid voor insuline, asthma bronchiale en diabetes mellitus.

Het bloed van 9 patiënten met overgevoeligheid voor insuline werd nagegaan. De erythrocyten toonden een verhoogde glycolyse en kaliumopname. Het gemiddelde natriumgehalte er van was een der hoogste van alle onderzochte groepen.

De erythrocyten van asthma patiënten toonden een verschillend gedrag tijdens aanval en herstel; de glycolyse was tijdens het herstel veel groter. Tijdens de aanval was het kaliumgehalte in het plasma lager dan er na.

Zeven patiënten met chronische nierziekten en anaemie toonden een ernstiger stoornis in kaliumopname dan in glycolyse. De passieve doorgankelijkheid der erythrocytenmembraan was voor kalium geremd, voor natrium verdubbeld.

Het onderzoek bij 12 patiënten met maligne tumoren toonde 7 maal een verhoogd kaliumgehalte der erythrocyten aan, terwijl 6 van deze 7 patiënten een verlaagde kaliumopname door hun rode bloedlichaampjes hadden.

Tenslotte werden enige patiënten onderzocht met minder voorkomende afwijkingen als alopecia totalis, dystrophia musculorum progressiva, hypogonadisme en insulinoom, die allen een verhoogde glycolyse en kaliumopname vertoonden. Na behandeling met insuline kon bij enkele van deze patiënten een significante toename van kalium in de erythrocyten worden vastgesteld. Het geval van insulinoom vertoonde de hoogste waargenomen glycolyse door erythrocyten van alle groepen.

Op grond van bovengenoemde gegevens lijkt de bepaling van glycolyse en kaliumopname door erythrocyten een voor de kliniek bruikbare methode te zijn ter beoordeling van de perifere koolhydraat- en electrolytenstofwisseling. Tevens kunnen hierdoor stofwisselingsstoornissen der erythrocyten zelf worden opgespoord. Tenslotte blijkt de passieve electrolyten-uitwisseling tussen plasma en erythrocyten een maat voor de doorgankelijkheid van de erythrocytenmembraan te zijn.

SUMMARY

In 1941, DANOWSKI claimed that by incubation at 37°C (98.6°F) of human blood which had been made incoaguable, the erythrocytes took up potassium as well as glucose. Before this time, it was already recognized that preserved erythrocytes released potassium to the environment while taking up sodium, which severely limited the clinical possibility of transfusions with preserved blood due to hyperpotassemia.

The physiology of the past 20 years has provided much data concerning the connection between electrolyte-shifts and the carbohydrate metabolism of human erythrocytes. However, there were practically no data available regarding the behaviour of the aforementioned under pathologic conditions. There was also little thought given to the fact that after blood-withdrawal the erythrocytes began to take up potassium against a high level of this electrolyte. Still, this large uptake can not be viewed as normal, since after some time the erythrocytes, *in vivo*, would be destroyed by way of osmotic swelling. Also experiments *in vivo* with K⁴² do not point in this direction.

We have investigated carbohydrate metabolism of human erythrocytes and the conjoint potassium and sodium-shifts under normal and pathologic conditions. To this end, blood, first made incoagulable was incubated and glucose, potassium and sodium content was measured in the plasma and erythrocytes at regular intervals. A survey was presented in Chapter II regarding the composition of plasma and erythrocytes for which we extracted from the literature the most important data regarding carbohydrate, potassium, sodium, and phosphate-metabolism of erythrocytes.

In Chapter III, the problems arising in connection with the procedure were minutely detailed. The experiments, in all cases, made use of the blood of patients in a fasting state. We considered the following: the conditions for the withdrawal of blood,

whereby anaërobic conditions were obtained through use of liquid paraffin, the measurement of initial values, whereby plasma seems to gain precedence over serum, the further handling of the blood, which was divided in several tubes, incubated at 37°C or 4°C and analyzed at certain intervals. Measurements were made at 0, 3, 6 and 26 hours.

There are two methods for measuring intracellular concentrations, the method whereby the measurements are made directly, and the indirect one, whereby the difference is measured between the concentrations of total blood and plasma after correction to equal volume relationships (haematocrit). We came to the conclusion that the indirect method deserves precedence for accurate measurements. In this case the measurement of the haematocrit is of great importance. Through improvement of a few details e.g., covering the Hamburger Haematocrit Tubes with a thin layer of liquid paraffin to counteract evaporation and use of a centrifugal force of 8100 g., a standard deviation of 0.195 percent was attained.

Then the different possibilities of error in the flame-photometric analysis were discussed in short and the accuracy of the measurements investigated by use of two groups of 25 measurements of one sample. For potassium as well as for sodium measurements in plasma, we arrived at a standard deviation of 0.24 percent as an average of the observations and at 1 percent for the single measurement.

Hereafter, the following were discussed: corrections for the intracellular water-shifts which could arise during incubation, the measurements of plasma and intracellular water and the measurement of intercellular plasma. A new method was developed for this purpose, based upon the differences in specific gravity between erythrocytes, total blood and plasma, which is expressed in the

formula: intercellular volume = $\alpha - \frac{\sigma_s - \sigma_p}{\sigma_e - \sigma_p}$. Hereby α was found

to be the haematocrit value and σ_s , σ_p and σ_e , respectively, the specific gravity of total blood, plasma and erythrocytes. With this method, whereby the specific gravity of plasma and total blood were weighed and the specific gravity of the erythrocytes was calculated by a suspension method, an intercellular plasma volume averaging 1.6 ± 0.26 percent was found, which was used as a correction standard for the further results.

The method of Hagedorn-Jensen for measurement of glucose

concentration in plasma, revealed a standard deviation of 0.77 mg percent as an average and 3.6 mg percent for the single observations.

The statistical procedures were the methods of Kendall, Wilcoxon and Student.

In Chapter 4 we discussed our own observations.

The blood of 10 normal subjects was extensively analyzed. It appeared that by incubation at 37°C, of blood which had been made incoaguable with heparin, the erythrocytes at first took up potassium against a high degree of concentration, whereby after three hours an average of 13.4 ± 0.96 percent of the beginning value of the plasma was taken up. This percentage of potassium-uptake in the first three hours is further used as a yard-stick in the determination of potassium metabolism. This uptake took place under the influence of glycolysis which remained fairly constant and amounted to an average of 12.3 mg/100 ml blood/hour. In which way the potassium is bound to carbohydrate utilisation is quite unknown but one does know that it is necessary for the function of various enzymes e.g. in the Embden-Meyerhof scheme where enol-pyruvic acid is transformed into pyruvic acid. There appeared to be an evident correlation between glucose utilisation and the simultaneous potassium uptake by the erythrocytes in the first three hours of incubation, so that the latter appears to be a measure of glycolysis speed. The sodium content of the erythrocytes directly increased during incubation. The sodium expulsion mentioned in the literature was only observed clearly in a single case. The simultaneous potassium and sodium uptake during incubation caused a volume increase of the erythrocytes from 49.4 to 53.9 percent. The exchange of potassium and sodium, after employment of the available energy (plasma-glucose), was considered a measure of the permeability of the erythrocyte membrane in regard to these electrolytes. This appeared to follow a certain pattern with respect to various illnesses.

The blood was examined in patients with the following maladies: diabetes mellitus, liver cirrhosis, anemias, corticosteroid administration, Addison's Disease, hypopotassemia, Familial Periodic Paralysis, hepatitis infectiosa, hyperthyroidism, raised insulin sensitivity, bronchial asthma, kidney diseases, malignant tumors and various other endocrine disturbances.

Two groups were found among patients with diabetes mellitus, those with poor glycolysis and potassium uptake who also needed

insulin and those with normal glycolysis who received no insulin therapy. In the first group, no normalization of carbohydrate metabolism of the erythrocytes was reached notwithstanding good clinical regulation. Only an excess of insulin (0.1 E/kg body weight) improved glycolysis and potassium uptake of the erythrocytes in vitro. Hereby, the potassium content of the erythrocytes appeared to increase, which was not the case with the control group. But also the group with the normal percentage of potassium uptake appeared to demonstrate a result other than normal after three hours, on account of an increased avidity to potassium uptake which often was maintained for nine hours. Due to the indications that insulin had an influence upon the glycolysis of the erythrocytes in diabetes mellitus, 26 experiments in vitro were performed at men with various illnesses, of which 9 were diabetes. A clear effect of insulin in vitro on glycolysis and potassium uptake was found in 14 cases, of which six were of diabetes mellitus, eight cases were negative and four doubtful. It is assumed that a maximal glycolysis and potassium uptake already existed in the cases where the results were negative.

Also, the blood of 18 patients with liver cirrhosis appeared to demonstrate an inhibited glycolysis and potassium uptake. The average glycolysis was very low, i.e. 6.5 mg/100 ml blood/hour. The plasma of a patient with a serious liver cirrhosis appeared to be able to strongly inhibit the glycolysis of normal erythrocytes. The erythrocytes of the patients with liver cirrhosis demonstrated a normalization of their glycolysis with normal plasma. Antibodies could not be found. The inhibited glycolysis in patients with liver cirrhosis appeared, in later tests in vitro, to be improved by insulin as well as inosin.

The blood of patients with various anemias was examined. Two cases of hypochromic anemia had too high a potassium content in the erythrocytes. Three patients with acute blood loss showed a very strongly inhibited glycolysis and potassium uptake of the erythrocytes, while the intracellular potassium content was very high and sodium content was much too low. Possibly a role was played by the "stress"-reaction with raised production of adrenal cortex steroids. Eight hemolytic anemias were investigated of which three (4?) were of the congenital spherocytosis type, while in none of the eight were antibodies to be found. All eight demonstrated an increased glycolysis and potassium uptake averaging 17.9 mg/100 ml/hour and 18.3 percent). One case of congenital spherocytosis

cytosis was analyzed before and after extirpation of the spleen and the splenic blood was also examined. The erythrocytes in the spleen showed a volume increase of 12.1% over the preoperative value accompanied by a decrease in potassium and increase in the sodium content. Also the glycolysis and potassium uptake *in vitro* was noticeably lower. The pre- and post-operative metabolic activity was practically the same. The passive electrolyte exchange was, on the other hand post-operatively 17 m aeq/100 ml higher. On the basis of this data, the supposition was made that a pooling of blood in the spleen caused the lysis of erythrocytes, whereby the erythrocyte membrane allows a greater exchange of sodium than potassium. This is possibly due to damage by factors present in the spleen (lysolecithin, acetylcholin). This results in an increase of cell-volume which surpasses the critical volume.

A strongly inhibited glycolysis and potassium uptake was found in three patients with macroglobulinemia just as in a serious case of multiple myeloma. From a crossing of the erythrocytes of one of the patients with Waldenström's disease with normal plasma, and vice-versa, the inhibited glycolysis of the patient with macroglobulinemia appeared to be bound to the erythrocytes.

A patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria was examined. Hereby a raised glycolysis of 21 mg/100 ml blood/hour was observed without parallel potassium uptake. To the contrary, there was a very severe loss of potassium during the entire incubation.

Two cases of acute myeloid leukemia were investigated. Hereby, the large number of leucocytes had a great influence on the glycolysis. Despite anaërobic conditions this reached 35 mg/100 ml/blood/hour without being accompanied by potassium uptake of the cells. After the disappearance of the plasma-glucose potassium loss was very severe. During a leucopenia, which resulted from treatment with ACTH, a poor glycolysis and potassium uptake by the erythrocytes was found.

In 12 patients who had been handled with corticosteroids, the effects thereof upon glycolysis and electrolyte-shifts were investigated. Hereby, glycolysis appeared to be strongly inhibited, averaging 6.9 mg/100 ml blood/hour, while the potassium uptake was comparably low at 5.4 mg%. The corticosteroid also caused a clear increase in the permeability of the erythrocyte membrane for sodium during incubation while to our surprise the intracellular concentration thereof, *in vivo*, was at a low level (10.2 m aeq/1 cells).

The total cation increase during a 26 hour incubation amounted to 54.2 m aeq/l cellular fluid (normally 29.4 m aeq). Consequently, the total cation-exchange between 6 and 26 hours, after disappearance of the plasma glucose, of the various investigated groups were summed up in Table 26. From this it appeared that the corticosteroid group demonstrated a very high passive sodium uptake with a low potassium release, so that an apparent volume-increase had to occur. This amounted to 16.6% and was only bettered by that in Addison's Disease (22.1% volume increase).

In five experiments, the effects of hydrocortisone and DOCA, *in vitro*, upon glycolysis and potassium-exchange, were examined. These also appeared now to be strongly inhibited.

Five patients with Addison's Disease were examined. Depending upon the clinical situation, varying electrolyte concentrations were found in plasma and erythrocytes. There was a clear predisposition to a raised intracellular potassium concentration (average 99.1 m aeq/l) while the sodium content was low (average 8.7 m aeq/l). In all five cases, there was a strongly disturbed glycolysis and accompanying potassium uptake (4.7 mg/100 ml/hour and 2.1%). The passive electrolyte-exchange between 6 and 26 hours was very high for sodium and low for potassium (Table 26). A low sodium concentration was also observed in many other illnesses, mostly in liver cirrhosis, corticosteroid therapy, kidney disease and patients with acute blood loss (table 29), while a raised concentration was mostly observed in patients with a raised sensitivity to insulin, as in diabetes mellitus, bronchial asthma and hyperthyroidism (table 34).

There appeared to be a clear correlation between lowered sodium content in the erythrocytes and a lowered glycolysis and potassium uptake and also between too high a potassium concentration and a lowered potassium uptake (table 30). Intracellular hypopotassemia had no influence on glycolysis and there were no accompanying sodium and potassium deviations or glycolysis disturbances observed.

The effect of hypopotassemia (plasma) was investigated in five patients, this averaged 3.07 m aeq/l. A strongly inhibited glycolysis and potassium uptake was found.

The blood of a patient suffering from Familial Periodic Paralysis was analyzed three times, during an attack, during the recovery which followed and in an attack-free period. There arose during the attack a low potassium content of the plasma (3.56 m aeq/l), the

sodium increased to 154.4 maeq/l. The erythrocytes showed an increase in glycolysis and potassium uptake which were decreased during the recovery and in the attack-free periods.

The potassium content of the erythrocytes was high outside of the attack-period and appeared to decrease during the attack (30 maeq/l), and was then, with 70.5 maeq/l cells, the lowest observed concentration. Also, the sodium content of the red cells changed considerably. There were indications of a raised cation permeability during the attack which could be imitated *in vitro* with acetylcholin. It is probable that a large amount of the potassium taken up in the muscles during the attack arose from the erythrocytes.

Glycolysis and potassium uptake appeared to be clearly increased in seven patients with hepatitis infectiosa as was the case with six patients having hyperthyroidism. Both groups demonstrated the predisposition to continue taking up potassium between three and six hours. The sodium content of the erythrocytes in hyperthyrotic patients was high (18.1 maeq/l), a deviation which had already been determined by Boekelman. This increased value was also demonstrated in many other illnesses (table 34) and appears aside from hyperthyroidism, to be most prevalent in patients with an increased sensitivity to insulin, bronchial asthma and diabetes mellitus.

The blood of nine patients with over-sensitivity to insulin was examined. The erythrocytes showed a raised glycolysis and potassium uptake, the latter becoming still greater between three and six hours. The erythrocytes of this group of patients showed the highest average sodium content (20.3 maeq/l) and six of the nine had a sodium content higher than 20 maeq/l.

The erythrocytes of asthma bronchiale patients showed a varying behavior during attack and recovery. The potassium content of the plasma was significantly lower during the attack than afterwards, while the metabolism of the erythrocytes during recovery was higher, for which, possibly, a difference in adrenal cortex activity was responsible.

The anemia which occurs frequently in chronic renal diseases gave reason for investigation of glycolysis and electrolyte-exchange in seven patients having chronic nephritis. Glycolysis and potassium uptake were strongly disturbed. The electrolyte disturbance was more serious than the glycolysis. Passive membrane permeability of erythrocytes was inhibited for potassium, opposite to the fact that it was doubled for sodium. From facts of the literature, one can

probably assume that the often stubborn anemia can be successfully fought with inosin.

Investigation of 12 cases of malignant tumors, including lung carcinomas, lymphosarcomas, bone sarcomas, Hodgkins disease, rectum and pancreatic carcinomas, demonstrated an obvious high percentage of raised potassium content of the erythrocytes. This amounted to an average of 100.4 m aeq/l. Of the seven carcinoma patients, four had a potassium concentration in the red blood cells higher than 100 m aeq/l while six of these seven patients, having had increased concentrations, showed a lowered potassium uptake. Passive permeability of the erythrocyte membrane was, in most cases, very high for sodium.

Finally, the erythrocytes of several patients were examined with less prevalent disturbances, such as alopecia totalis, progressive muscular dystrophy, hypogonadism and insulinoma, who all appeared to show a raised glycolysis and potassium uptake. After treatment with insulin, a significant increase in potassium in the erythrocytes could be determined in a few of these patients. In a case of insulinoma, with serious hypoglycemias, a glycolysis of the erythrocytes was shown, amounting to 41 mg/100 ml/hour, with accompanying high potassium uptake.

We claim, on the grounds of the above mentioned data regarding percentage of potassium uptake by erythrocytes paralleled with their glycolysis, to have found a clinically applicable method for the determination of peripheral carbohydrate and electrolyte metabolism. Further, metabolic disturbances of the erythrocytes can hereby be traced. In conclusion, the passive electrolyte-exchange between plasma and erythrocytes, after disappearance of the plasma glucose, appears to be a measure of permeability of the erythrocyte membrane for potassium and sodium ions.

LITERATUUR

1. *a.* PONDER, E. Red cell structure and its breakdown. *Protoplasmatologia*. Band X, 2. Wien, Springer Verlag 1955.
- b.* WINKLER, K. C. 1938. Dissertatie Leiden: De membraan van de erythrocyt als tricomplex systeem.
2. HASTINGS, A. B., SENDROY, J., MC. INTOSH, J. F., v. SLYKE, D. D. 1928. *J. Biol. Chem.* 79, 193. Studies of gas and electrolyte equilibria in blood.
3. DILL, D. B., TALBOTT, J. H., EDWARDS, H. T. 1930, *J. Physiol.* 69, 267. Studies in muscular activity. VI. Response of several individuals to a fixed task.
4. BUTLER, A. M., MCKAY, E. M. 1934. *J. Biol. Chem.* 106, 107. The influence of the sodium and potassium content of the diet upon the sodium concentration of human centrifuged red blood cells.
5. PETERS, J. P. 1935. *Body Water, the exchange of fluids in Man*. London, Bailliere and Cox.
6. EISENMANN, A. J., MACKENSIE, L. B., PETERS, J. P. 1936, *J. Biol. Chem.* 116, 33. Protein and water of serum and cells of human blood, with a note on the measurement of red blood cell volume.
7. MAIZELS, M. 1936. *Biochem J.* 30, 821. The anion and cation contents of normal and anaemic bloods.
8. ERICKSON, B. N., WILLIAMS, H. H., HUMMEL, F. C., MACY, J. G. 1937, *J. Biol. Chem.* 118, 15. Lipid and mineral distribution in serum and erythrocytes of normal children.
9. DILL, D. B., EDWARDS, H. T., CONSOLAZIO, W. V., 1937. *J. Biol. Chem.* 118, 635. Blood as a physico-chemical system. XI. Man at rest.
10. PONDER, E. 1942. *J. Biol. Chem.* 144, 333. Relation between red blood cell density and corpuscular hemoglobin concentration.
11. RAPOPORT, S., STEVENS, C. D., ENGEL, G. L., FERRIS, E. B., LOGAN, M. 1946. *J. Biol. Chem.* 163, 411. Effect of voluntary overbreathing on electrolyte equilibrium of arterial blood in man.
12. PONDER, E. 1948. *Hemolysis and related phenomena*. Grune & Stratton, New York.
13. GUEST, G. M. 1949. *Am. J. Med.* 7, 630. Diabetic coma. Metabolic derangements and principles for corrective therapy.
14. DRABKIN, D. L. 1950. *J. Biol. Chem.* 185, 231. Spectrophotometric studies; hydration of macrosized crystals of human hemoglobin and osmotic concentrations in red cells.
15. NICHOLS, G., NICHOLS, N. 1953. *J. Clin. Invest.* 32, 113. Electrolyte equilibria in erythrocytes during diabetic acidosis.

16. GAMBLE, J. L. 1954. Chemical anatomy, physiology and pathology of extracellular fluid. Harvard University Press. Camb.
17. ROEGHOLT, L. P. 1955. Dissertatie Amsterdam: De bepaling van het natrium- en kalium-gehalte van erythrocyten en de betekenis daarvan voor de kliniek.
18. KRAMER, B., TISDALL, F. 1921. *J. Biol. Chem.* **46**, 399. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum.
19. KRAMER, B., TISDALL, F. 1921. *J. Biol. Chem.* **46**, 467. A simple method for the direct quantitative determination of sodium in small amounts of serum.
20. MEYERS, V. C., SHORT, J. J. 1921. *J. Biol. Chem.* **48**, 83. The potassium content of normal and some pathological human bloods.
21. KRAMER, B., TISDALL, F. 1922. *J. Biol. Chem.* **53**, 241. The distribution of sodium, potassium, calcium and magnesium between the corpuscles and serum of human blood.
22. ATCHLEY, D. A., LOEB, R. F., BENEDICT, E. PALMER, W. W. 1923. *Arch. Int. Med.* **31**, 606. Physical and chemical studies of human blood serum. I. A study of normal subjects.
23. ROURKE, DOROTHY. 1928. *J. Biol. Chem.* **78**, 337. On the determination of the sodium content of small amounts of serum or heparinised plasma by the iodometric method.
24. DILL, D. B., TALBOT, J. H., EDWARDS, H. T. 1930. *J. Physiol.* **69**, 267. Studies in muscular activity. VI. Response of several individuals to a fixed task.
25. HOFFMAN, W. S., JACOBS, H. R. D. 1934. *J. Lab. Clin. Med.* **19**, 633. The partition of potassium between the serum and corpuscles in health and disease.
26. MAIZELS, M. 1935. *Bioch. J.* **29**, 70. The permeation of erythrocytes by cations.
27. OBERST, E. W. 1935. *J. Biol. Chem.* **108**, 153. The determination of sodium in human red blood cells.
28. HALD, P. M., EISENMANN, A. J. 1937. *J. Biol. Chem.* **118**, 275. The distribution of bases between cells and serum of normal human blood.
29. CRABTREE, M. G., MAIZELS, M. 1937. *Biochem. J.* **31**, 2153. The sodium contents of human erythrocytes.
30. STREEF, G. M. 1939. *J. Biol. Chem.* **129**, 661. Sodium and calcium content of erythrocytes.
31. CONSOLAZIO, W. V., TALBOTT, J. H. 1940. *J. Biol. Chem.* **132**, 752. The determination of total base in biological material by electroanalysis.
32. ALBANESE, A. A., WAGNER, D. L. 1945. *J. Lab & Clin. Med.* **30**, 280. A method for the colorimetric determination of potassium in biologic products.
33. HALD, P. M. 1946. *J. Biol. Chem.* **163**, 429. Notes on the determination and distribution of sodium and potassium in cells and serum of normal human blood.
34. MARINIS, T. P., MUIRHEAD, E. E., JONES, F., HILL, J. M. 1947. *J. Lab & Clin. Med.* **32**, 1208. Sodium and potassium determinations in health and disease.
35. HALD, P. M. 1947. *J. Biol. Chem.* **167**, 499. The flame-photometer for the measurement of sodium and potassium in biological materials.
36. HALD, P. M., HEINSEN, A. J., PETERS, J. P. 1947. *J. Clin. Invest.* **26**, 983. The estimation of serum sodium from bicarbonate plus chloride.
37. OVERMAN, R. R., DAVIS, A. K. 1947. *J. Biol. Chem.* **168**, 641. The application of flame-photometry to sodium and potassium determinations in biological fluids.
38. ALBANESE, A. A., LEIN, M. 1948. *J. Lab & Clin. Med.* **33**, 246. The microcolorimetric determination of sodium in human biologic fluids.

39. MOSHER, R. E., BOYLE, A. J., BIRD, E. J., JACOBSON, S. D., BATCHELOR, TH. M., ISERI, L. T., MEYERS, G. B. 1949. *Am. J. Clin. Path.* 19, 461. The use of flame photometry for the quantitative determination of sodium and potassium in plasma and urine.
40. RANDALL, H. T., HABIF, D. V., LOCKWOOD, J. S., WERNER, S. C. 1949. *Surgery* 26, 341. Potassium deficiency in surgical patients.
41. SMITH, R. G., PATRICIA CRAIG, BIRD, E. J., BOYLE, A. J., ISERI, L. T., JACOBSON, S. D., MEYERS, G. B. 1950. *Am. J. Clin. Path.* 20, 3, 263. Spectrochemical values for sodium, potassium, iron, magnesium and calcium in normal human plasma.
42. DRABKIN, D. L. 1950. *J. Biol. Chem.* 185, 231. Spectrophotometric studies; hydration of macrosized crystals of human hemoglobin and osmotic concentrations in red cells.
43. DAVIDSEN, H. G., KJERULF-JENSEN, K. 1950. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 74, 477. Potassium uptake of normal and low potassium human red corpuscles.
44. CORSA, L., OLNEY, J. M., STEENBURG, R. W., BALL, M. R., MOORE, F. D. 1950, *J. Clin. Invest.* 29, 1280. The measurement of exchangeable potassium in man by isotope dilution.
45. FARBER, S. J., PELLEGRINO, E. D., CONAN, N. J., EARLE, D. P. 1951. *Am. J. Med. Sci.* 221, 678. Observations on the plasma potassium level of man.
46. ELLIOTT, H. C., HOLLEY, H. L. 1951. *Fed. Proc.* 10, 180. Serum sodium and potassium values in 400 normal human subjects determined by Beckman flame-photometer.
47. WALLACE, W. M., HOLLIDAY, M., CUSHANAN, M., ELKINTON, J. R. 1951. *J. Lab & Clin. Med.* 37, 621. The application of the internal standard flame photometer to the analysis of biologic material.
48. LANS, H. S., STEIN, J. F., MEYER, K. A. 1952. *Am. J. Med. Sci.* 223, 65. The relation of serum potassium to erythrocyte potassium in normal subjects and patients with potassium deficiency.
49. BERNSTEIN, R. E. 1952. *S. Afr. J. Med. Sci.* 17, 101. The determination of potassium and sodium in biological fluids by flame spectrophotometry.
50. WEBSTER, J. H., NEFF, J., SCHIAFFINO, S. S., RICHMOND, A. M. 1952. *Am. J. Clin. Path.* 22, 833. Evaluation of serum potassium levels.
51. HUTT, M. P. 1952. *Am. J. Med. Sci.* 223, 176. Effect of disease on erythrocyte and plasma potassium concentrations.
52. ELMAN, R., SHATZ, B. A., KEATUNG, R. E., WEICHELBAUM, TH. E. 1952. *Ann. Surg.* 136, 111. Intracellular and extracellular potassium deficits in surgical patients.
53. TOSTESON, D. C., SHEA, E., DARLING, R. C. 1952. *J. Clin. Invest.* 31, 406. Potassium and sodium of red blood cells in sickle cell anemia.
54. HARRISON, H. E., FINBERG, L., FLEISCHMAN, E. 1952. *J. Clin. Invest.* 31, 300. Disturbances of ionic equilibrium of intracellular and extracellular electrolytes in patients with tuberculous meningitis.
55. SOLOMON, A. K. 1952. *J. Gen. Physiol.* 36, 57. The permeability of the human erythrocyte to sodium and potassium.
56. BERNSTEIN, R. E. 1953. *S. Afr. J. Med. Sci.* 18, 99. Serum and plasma preparation for potassium analysis: effects of anticoagulants, storage and temperature before separation, and hemolysis.
57. LOVE, D. W., BURCH, G. E. 1953. *J. Lab & Clin. Med.* 41, 258. Plasma and

erythrocyte sodium and potassium concentrations in a group of southern white and negro blood donors.

58. NICHOLS, G., NICHOLS, N. 1953. *J. Clin. Invest.* 32, 113. Electrolyte equilibria in erythrocytes during diabetic acidosis.
59. KEITEL, H. G., BERMAN, H., JONES, H., McLACHLAN, E. 1955. *Blood*, X, 370. The chemical composition of normal human red blood cells, including variability among centrifuged cells.
60. GOLD, G. L., SOLOMON, A. K. 1955. *J. Gen. Physiol.* 38, 389. Transport of sodium into human erythrocytes in vivo.
61. PRITCHARD, J. A. 1955. *Surg. Gyn. Obst.* 100, 131. Use of magnesium ion in management of eclamptogenic toxemias.
62. FAWCETT, J. K., WYNN, V. 1956. *Br. Med. J.* 8, 583. Variations of plasma electrolyte and total protein levels in the individual.
63. D'AMICO, G. 1958. *Am. J. Med. Sci.* 236, 156. Red cell sodium and potassium in congestive heart failure, essential hypertension and myocardial infarction.
64. BOEKELMAN, W. A. 1958. *Dissertatie Utrecht*. Erythrocyten-natrium en schildklierfunctie.
65. VAN SLYKE, D. D., WU, H., McLEAN, F. C. 1923. *J. Biol. Chem.* 56, 765. Studies of gas and electrolyte equilibria in the blood. V. Factors controlling the electrolyte and water distribution in the blood.
66. BERNARD, CL. 1877. *Lçons sur le diabète et la glycogénèse animale*. Paris Baillière p. 207.
67. SOMOGY, M. 1928. *J. Biol. Chem.* 78, 117. The distribution of sugar in normal human blood.
68. LEFÈVRE, P. G., DAVIES, R. J. 1951. *J. Gen. Physiol.* 34, 515. Active transport into the human erythrocyte; evidence from comparative kinetics and competition among monosaccharides.
69. GOLDSTEIN, M. S., LESTER, H. W., HUDDLESTON, B., LEVINE, R. 1953. *Am. J. Physiol.* 173, 207. Action of insulin on transfer of sugars across cell barriers. Common chemical configuration of substances responsive to action of the hormone.
70. PARK, C. R. *Colloquia on endocrinology*, vol. 9. 1956. 240. The transport of glucose and other sugars across cell membranes and the effect of insulin.
71. HENNESEY, M., FINCH, C. A., GABRIO, B. W. 1957. *J. Clin. Invest.* 36, 429. Erythrocyte preservation VIII. Metabolic degradation of nucleosides in vitro and in vivo.
72. LÉPINE, R., *Le ferment glycolytique et la pathogenie du diabète*. Paris 1891.
73. McLEAN, H., WEIR, H. B. 1915. *Biochem. J.* 9, 412. The part played by the different blood elements in glycolysis.
74. BARTLETT, G. R., MARLOW, A. A. 1953. *J. Appl. Physiol.* 335. Comparative effects of the different formed elements on normal human blood glycolysis.
75. SELWYN, J. G., DACIE, J. V. 1954. *Blood*, 9, 414. Autohemolysis and other changes resulting from incubation in vitro of red cells from patients with congenital hemolytic anemia.
76. BECK, W. S., VALENTINE, W. N. 1953. *Cancer research*. 13, 309. The carbohydrate metabolism of leucocytes: a review.
77. SCHMITZ, H. L., GLOVER, E. CH. 1927. *J. Biol. Chem.* 74, 761. Glycolysis in leucemic blood.

78. BURGER, W. 1930. Arch. Exp. Path. & Pharmacol. 150, 298. Über Glykolyse der roten Blutkörperchen.
79. PRANKERD, T. A. J. 1955. Br. J. Haematol. 1, 131. The Metabolism of the Human Erythrocyte: a review.
80. PRANKERD, T. A. J., ALTMANN, K. J., YOUNG, L. E., Unpublished observations, geciteerd in Br. J. Haematol. 1, 131, p. 139.
81. BEUTLER, E. 1957. J. Lab & Clin. Med. 49, 84. The glutathion instability of drug sensitive red cells.
82. BRUNS, F., RUMMEL, W. 1950. Biochem. Z. 321, 205. Über den Einfluss von Cystein und SH-glutathion auf den Stoffwechsel der kernlosen roten Blutzellen.
83. CARSON, P. E., FLANAGAN, C. L., ICKES, C. E., ALVING, A. S. 1956. Science. 124, 484. Enzymatic deficiency in primaquine sensitive erythrocytes.
84. HOLLINGWORTH, J. W. 1955. J. Lab & Clin. Med. 45, 920. Erythrocyte glycolysis in hemolytic disease.
85. ULTMANN, J. E., HYMAN, G. A., HARVEY, J. L., DENTE, A. R. 1957. Blood. 12, 1114. Erythrocyte glycolysis in patients with malignant neoplasms and other chronic diseases.
86. MUIRHEAD, E. E., JONES, F. 1958. J. Lab & Clin. Med. 51, 49. Lowered glucose utilization, phosphate uptake and reduced glutathione content of erythrocytes following bilateral nephrectomy.
87. NICHOLS, G., NICHOLS, N. 1953. J. Clin. Invest. 32, 113. Electrolyte equilibria in erythrocytes during diabetic acidosis.
88. HARRIS, E. J., MAIZELS, M. 1952. J. Physiol. 118, 40. Distribution of ions in suspensions of human erythrocytes.
89. TORP, H. E. 1956. Scand. J. Clin. & Lab. Invest. 8, 84. Has the enzyme system acetylcholine - cholinesterase any significance for physiological hemolysis in the spleen?
90. BEHRENDT, H. 1957. Chemistry of erythrocytes. Clinical aspects. Charles Thomas Springfield, Illinois.
91. NAEGLI, O., geciteerd door Hegglin, R. 1956. Differentialdiagnose innerer Krankheiten p. 49, G. Thieme Verlag, Stuttgart.
92. DANOWSKI, TH. S. 1941. J. Biol. Chem. 139, 693. The transfer of potassium across the human blood cell membrane.
93. WILBRANDT, W. 1940. Pflüger Arch. ges. Physiol. 243, 519. Die Abhängigkeit der Ionenpermeabilität der Erythrocyten vom glykolytischen Stoffwechsel.
94. GABRIO, B. W., FINCH, C. A., HUENNEKENS, F. M. 1956. Blood. II, 103. Erythrocyte preservation: a topic in molecular biochemistry.
95. MAIZELS, M. 1951. J. Physiol. 112, 59. Factors in the active transport of cations.
96. SHEPPARD, C. W., MARTIN, W. R. 1950. J. Gen. Physiol. 33, 703. Cation exchange between cells and plasma of mammalian blood. I. Methods and application to potassium exchange in human blood.
97. LEVI, H. 1945. Danske Vidensk Selsk. Mat. Fys. 23, 101. Note on the permeability of red blood corpuscles to potassium, geciteerd door Sheppard. 1950. (99).
98. WHITTAM, R. 1958. J. Physiol. 140, 3, 479. Potassium movements and ATP in human red cells.
99. SHERWOOD JONES, E. 1958. Clinical Science. 17, 2, 309. Metabolic response of the human erythrocyte to diabetic acidosis.

100. PONDER, E. 1950. *J. Gen. Physiol.* 33, 745. Accumulation of potassium by human red cells.
101. MAIZELS, M. 1954. Symposia of the soc. for exper. biology no. VIII. 202. Cambridge. Active transport and secretion.
102. POST, R. L., JOLLY, P. C. 1957. *Biochem. Biophys. Acta.* 25, 118. The linkage of sodium, potassium and ammonium active transport across the human erythrocyte membrane.
103. ADAIR, G. S. 1925. *J. Biol. Chem.* 63, 517. The hemoglobin system. V. The relation of hemoglobin and bases.
104. HARRIS, E. J. in Active Transport and secretion. Symposia of the soc. for experim. biol. no. VIII. Cambridge 1954; zie ook no. 88.
105. JORDAN, F. L. J., Proefschrift Utrecht 1935. Studie over haemoglobinurie.
106. HAM, T. H. 1939. *Arch. Int. Med.* 64, 1271. Studies on destruction of red blood cells. I. Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: an investigation of the mechanism of hemolysis, with observations on five cases.
107. BEHRENDT, H. 1957. *Chemistry of Erythrocytes. Clinical aspects.* p. 116. Ch. C. Thomas. Springfield, Illinois.
108. DANOWSKI, T. S., HALD, P. M., PETERS, J. P. 1947. *Am. J. Physiol.* 149, 667. Sodium, potassium and phosphates in cells and serum of blood in diabetic acidosis.
109. KEITEL, H. G. 1955. Persoonlijke mededeling aan Roegholt, L. P.
110. SHERWOOD JONES, E. 1958. *Clinical Science.* 17, 309. Metabolic response of the human erythrocyte to diabetic acidosis.
111. SCHWARZ, W. B., RELMAN, A. S. 1953. *J. Clin. Invest.* 32, 258. Metabolic and renal studies in chronic potassium depletion resulting from overuse of laxatives.
112. BLACK, D. A. K., MILNE, M. 1952. *Clin. Sci.* II. 397. Experimental potassium depletion in man.
113. ELIEL, L. P., PEARSON, O. H., RAWSON, R. W. 1950. *New. Engl. J. Med.* 243, 417. Postoperative potassium deficit and metabolic alkalosis.
114. KNOWLES, H. C., ALVERSON, G., RUBENSTEIN, E. 1955. *J. Lab & Clin. Med.* 45, 463. The erythrocyte potassium concentration in conditions of hyponatremia and hypernatremia.
115. HARRISON, H. E., FINBERG, L., FLEISHMAN, E. 1952. *J. Clin. Invest.* 31, 300. Disturbances of ionic equilibrium of intracellular and extracellular electrolytes in patients with tuberculous meningitis.
116. RIECKER, G., BUBNOFF, M. v. 1958. *Klin. Wschr.* 36, 556. Über den intracellulären Wasser- und Elektrolytstoffwechsel. Untersuchungen an Erythrocyten.
117. CLIFFORD, TH. C., BEAUTIMAN, W. 1958. *Clin. Chem.* 4, 311. Changes in the erythrocyte potassium in patients with cardiac failure treated with digitalis.
118. SHERWOOD JONES, E. 1955. *Nature.* 176, 269. Cellular electrolytes and adrenal steroids.
119. STREETEN, D. H. P., SOLOMON, A. K. 1953. *J. Gen. Physiol.* 37, 643. The effect of ACTH and adrenal steroids on potassium transport in human erythrocytes.
120. HALLMANN, N., TÄKLÄ, H. 1952. *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* 30, 293. Effect of desoxycorticosterone acetate on red cell potassium and sodium in infants.
121. SCHATZMANN, H. J. 1953. *Helv. Physiol. Acta* II, 346. Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium- und Natrium-transport durch die Erythrocytenmembran.
122. SOLOMON, A. K., GILL, TH. J., LENNARD GOLD, G. 1956. *J. Gen. Physiol.* 40, 2.

327. The kinetics of cardiac glycoside inhibitors of potassium transport in human erythrocytes.
123. HAHN, L., HEVESEY, G. 1941. *Acta Physiol. Scand.* 3, 193. Rate of penetration of ions into erythrocytes.
124. PRANKERD, TH. A. J., ALTMAN, K. J., YOUNG, L. E. 1955. *J. Clin. Invest.* 34, 1268. Abnormalities of carbohydrate metabolism of red cells in hereditary spherocytosis.
125. MUELLER, C. B., HASTINGS, A. B. 1951. *J. Biol. Chem.* 189, 881. Glycolysis and phosphate fractions of red blood cells.
126. PRANKERD, T. A. J., ALTMAN, K. J. 1954. *Biochem. J.* 58, 622: A study of the metabolism of phosphorus in mammalian red cells.
127. RAPOPORT, S., LUEBERING, J. 1950. *J. Biol. Chem.* 183, 507. The formation of 2,3 diphosphoglycerate in rabbit erythrocytes: The existence of a diphosphoglycerate mutase.
128. DICKENS, F. 1938. *Bioch. J.* 32, 1626. Oxidation of phosphohexonate and pentose phosphoric acid by yeast enzymes.
129. DISCHE, Z. 1951. *Symposion on Phosphorus Metabolism*. Baltimore, the John's Hopkins Press. 1951. p. 171.
130. GABRIO, B. W., FINCH, C. A., HUENNEKENS, F. M. 1956. *Blood* XI, 2, 103. Erythrocyte preservation: a topic in molecular biochemistry.
131. SOLVONUCK, P. F., COLLIER, H. B. 1955. *Canad. J. Biochem.* 33, 38: the pyruvic phosphoferase of erythrocytes.
132. PRANKERD, T. A. J. 1955. *Clinical Science.* 14, 4. 633. The effect of intracellular K on red cell metabolism.
133. KOLCHAR, H. M., ANDERSON, E. P., ISSELBACHER, K. J. 1956. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 42, 49. Galactosemia, a congenital defect in a nucleotide transferase.
134. SZEINBERG, A., SHEBA, CH., ADAM, A. 1958. *Nature.* 181, 1256. Enzymatic abnormality in erythrocytes of a population sensitive to vicia faba or haemolytic anaemia induced by drugs.
135. MERRIL, J. P. 1957. *J. Clin. Invest.* 36, 923. Effects of dialysis and purine ribosides upon the anemia of uremia.
136. McCLELLAN, J. E., DONEGAN, CH., THORUP, O. A., LEAVELL, B. S. 1958. *J. Lab & Clin. Med.* 51, 91. Survival time of the erythrocyte in myxedema and hyperthyroidism.
137. RODNAN, G. P., JENSEN, W. N. 1957. *Clin. Res. Proc.* 5, 8. A study of red blood cell survival in hypo- and hyperthyroidism.
138. GREGORCZYK, K., MÜNICH, W. *Klin. Wsch.* 1955. 33, 942. Über die Beeinflussung der P³² Aufnahme in menschliche Erythrocyten durch 17- oxy- 11- dehydrocortison.
139. MACHO, L. 1957. *Clin. Chim. Acta.* 2, 345. The effect of thyroid hormone on the glycolytic activity of blood.
140. ERMANS, A. M. 1957. *Helv. Med. Acta.* 24, 3, 201. Étude de la vitesse de sortie du phosphore radioactif des globules rouges en rapport avec l'activité thyroïdienne chez l'homme.
141. MILLS, J. N. 1955. *J. Physiol.* 128, 2, 47. p. The acute response to potassium ingestion.
142. FARBER, S. J., PELLEGRINO, E. D., COVAN, N. J., EARLE, D. P. 1951. *Am. J. Med. Sc.* 221, 678. Observations on the plasma potassium level of man.
143. MAAS, A. H. J., Ongepubliceerde waarnemingen.

144. BERNSTEIN, R. E. 1953. *S. Afr. J. Med. Sci.* 18, 99. Serum and plasma preparation for potassium analysis: effect of anticoagulants, storage, and temperature before separation, on hemolysis.
145. SOSKIN, S., LEVINE R. 1952. *Carbohydrate metabolism*, the University of Chicago Press.
146. VON LEPPÄNEN, F., KRUSIUS, E., METTNER, T. 1952. *Ann. Med. Exp. biol. Fenn.* 30, 305. Ein einfacher und genauer Flammenphotometer zur Bestimmung der Blutalkalimetalle.
147. WEBSTER, J. H., NEFF, J., SCHRAFFINO, S. S., RICHMOND, A. M. 1952. *Am. J. Clin. Path.* 22, 833. Evaluation of serum potassium levels.
148. JOYCE, C. R. B. 1958. *Journ. physiol.* 141, 1, 9 p. Differences between parts of packed human red cell columns.
149. GERBRANDY, J. 1951. *Proefschrift Amsterdam*. De regulatie van het bloedplasma volume.
150. ALKEMADE, C. T. J. *Dissertatie Utrecht*. 1954. A contribution to the development and understanding of flame photometry.
151. WOLDRING, M. G. 1952. *Dissertatie Groningen*. Vlamfotometrische bepaling van natrium en kalium in enkele biologische vloeistoffen.
152. KENDALL, M. G. 1955. *Rank Correlation Methods*, 2 nd. ed. Ch. Griffin, London.
153. WABEKE, D., VAN EEDEN, C. 1955. Handleiding voor de toets van Wilcoxon. Rapport S. 176. (M 65). van de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum, Amsterdam.
- 153a BENARD, A., VAN EEDEN, C. 1956. Handleiding voor de symmetrietoets van Wilcoxon. Rapport S 208 (M. 76) van de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum, Amsterdam.
- 153b VAN EEDEN, C. 1953. Methoden voor het vergelijken, toetsen en schatten van onbekende kansen. Rapport S 115 (M. 45) van de Statistische Afdeling van het Mathematisch Centrum, Amsterdam.
154. STUDENT, 1908. *Biometrika* 6, 1. The probable error of a mean.
155. KOSTER, L., HOUTSMULLER, A. J., HOUTZAGERS, J. J. R., HOEKE, J. O. O., VAN NUGTEREN, D. H. Biochemische veranderingen in het systeem plasma-erythrocyten tijdens het bewaren van bloed. In bewerking.
156. HECKER, R., SHERLOCK, S. 1956. *Lancet*, Dec. I. 1121. Electrolyte and circulatory changes in terminal liver failure.
157. GREIG, E., HOLLAND, W. C. 1949. *Arch. Bioch.* 23, 370. Studies on the permeability of erythrocytes. I. The relation between cholinesterase activity and permeability of dog erythrocytes.
158. WILBRANDT, W. 1948. *Pflügers Arch.* 250, 569. Zur Methodik der osmotischen Permeabilitätsmessung an Erythrocyten.
159. SINGER, K. 1940. *Am. J. Med. Sc.* 199, 466. The lysolecithin test.
160. WILBUR, K. M., COLLIER, H. B. 1943. *J. Cell. Comp. Physiol.* 22, 233. A comparison of the hemolytic actions of lysolecithin and saponin.
161. BECK, W. S., VALENTINE, W. N. 1953. *Cancer Research*: 13, 4,5 309. The carbohydrate metabolism of leukocytes: a Review.
162. PULVER, R., VERZAR, F., *Helv. Chim. Acta* 1941. 24, 272. Kalium und Kohlehydrat-Stoffwechsel der Leukocyten.
163. BIEMOND, A., POLAK DANIELS, A. 1934. *Brain*, 57. 91. Familial periodic paralysis and its transition into spinal muscular atrophy.

164. DANOWSKI, T. S., ELKINTON, J. K., BURROWS, B. A., WINKLER, A. W. 1948. J. Clin. Invest. 27, 65. Exchanges of sodium and potassium in familial periodic paralysis.
165. ZIERLER, K. L., ANDRES, R. 1957. J. Clin. Invest. 36, 730. Movement of potassium into skeletal muscle during spontaneous attack in family periodic paralysis.
166. FLECKENSTEIN, A., *Der Kalium-Natrium Austausch als Energieprinzip in Muskel und Nerv*. 1955. Springer Verlag, Berlin.
167. TAYLOR, I. M., WELLER, J. M., HASTINGS, A. B. 1952. Am. J. Physiol. 168, 659. Effect of cholinesterase and cholin-acetylase inhibitors on potassium concentration gradient and potassium exchange of human erythrocytes.
168. ALERS, CH. J. 1955. Dissertatie Utrecht. De bijnierfunctie bij asthma bronchiale
169. PELSER, H. E., GROEN, J. 1958. Ned. T. Gen. 102, 560. De uitscheiding van 17-hydroxycorticoïden als een maatstaf voor de bijnierschorsfunctie bij patienten met asthma bronchiale en bij gezonde proefpersonen.
170. JACOBSON, L. O., GOLDWASSER, E., FRIED, W., PLZAK, L. 1957. Nature 179, 633. Role of the kidney in erythropoiesis.
171. FORSELL, J. 1958. Acta Med. Scand. 69. III. 169. Nephrogenous Polycythaemia.
172. GROEN, J., WILLEBRANDS, A. F. W., KAMMINGA, CH. E., v. SCHOTHORST, H. K., GODFRIED, E. G. 1952. Acta Med. Scand. 141, 352. Effect of glucose administration on the potassium and inorganic phosphate content of the blood serum and the electrocardiogram in normal individuals and in non-diabetic patients.

